FLORA

ODER ALLGEMEINE BOTANISCHE ZEITUNG

HERAUSGEGEBEN VON

DR. O. RENNER

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT JENA

NEUE FOLGE. 34. BAND

DER GANZEN REIHE 134. BAND

ERSTES HEFT

MIT 46 ABBILDUNGEN IM TEXT

Nachlaß von Prof. N. Malta

JENA

VERLAG VON GUSTAV FISCHER

1939

Flora. N. F. Band 34	Heft 1	S. 1—104, Jena, 16. 10. 1939

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
† BÖTTICHER, R., und BEHLING, L., Licht, Transpiration, Salzaufnahme und Blattstruktur. Ein Beitrag zum Problem der Sonnen- und Schattenblätter. Mit 13 Abbildungen im Text	1— 44
MÜNCH, ERNST, Weitere Untersuchungen über Druckholz und Zugholz. Mit 11 Abbildungen im Text	45— 57
JOHANNES, HEINRICH, Beiträge zur Vitalfärbung von Pilzmyzelien. Mit 22 Abbildungen im Text	58—104

Die „Flora" erscheint zwanglos in einzeln berechneten Heften. Je 4 Hefte bilden einen Band. Im Jahre 1939 wird ein Band ausgegeben, dessen Gesamtpreis RM 40.— nicht überschreiten wird.

Manuskripte in deutscher Sprache, völlig druckfertig in Maschinenschrift, sind zu richten an Prof. Dr. O. Renner, Jena, Botanisches Institut.

Äußerste Kürze wird allen Mitarbeitern zur Pflicht gemacht. Tabellen und Abbildungen sind auf das unumgänglich Nötige zu beschränken.

Verfassernamen sind dort, wo sie im Druck hervorgehoben werden sollen — nicht grundsätzlich, z. B. nicht bei öfterer Wiederholung — gerade zu unterstreichen, lateinische Namen sind gewellt zu unterstreichen. Die Texte zu den Abbildungen sind auf besonderem Blatt gesammelt beizugeben.

Verlag von Gustav Fischer in Jena *Neue Veröffentlichung*

Die Bärlappgewächse (Lycopodiaceae)

Eine beschreibende Zusammenstellung mit besonderer Berücksichtigung ihrer Varietäten und Formen

Von

Hermann Nessel

Garteninspektor des Botanischen Gartens in Gießen

Mit einem Titelbild und 88 Abbildungen im Text mit 258 Einzelbildern nach den Originalpflanzen

IX, 404 S. gr. 8° 1939 RM 20.—, geb. 21.50

Inhalt. Allgemeiner Teil: 1. Über Gestalt und inneren Bau. 2. Standorte. 3. Leicht erkenntliche Merkmale. 4. Vermehrung. 5. Kulturwinke. 6. Nutzen und Verwendung. 7. Geographische Verbreitung. / Spezieller Teil: 1. Einteilung. 2. Aufzählung der Haupt- und Untergruppen, Arten und Formen in systematischer Reihenfolge: Gattung I: „Urostachys." Gattung II: „Lycopodium." / Schlußwort. Wichtigste Literatur. Register der Arten, Abarten, Formen und Synonyme.

Im Verlauf der letzten 25 Jahre hat sich eine stattliche Zahl von neuen und mutmaßlich neuen Arten und Formen der so interessanten Familie der Lycopodiaceen angesammelt; es erwies sich daher eine durchgreifende systematische Bearbeitung als notwendig, zumal auch selbst in größeren beschreibenden Werken die Familie der Lycopodiaceen recht wenig bedacht worden ist.

Der Verfasser der hier vorliegenden Gesamtbeschreibung ist ein ausgezeichneter Kenner der Bärlappgewächse. Sie ist das Ergebnis vieljähriger Arbeit und enthält in kurzer Fassung eine Darstellung aller bis jetzt bekannten Arten mit allen ihren Formen und mit besonderer Berücksichtigung der einheimischen Arten. Eine stattliche Menge findet dabei zum ersten Male Erwähnung. Die Abbildungen sind ausnahmslos eigene Aufnahmen des Verfassers.

Nachlaß von Prof. N. Malta

587

Licht, Transpiration, Salzaufnahme und Blattstruktur.

Ein Beitrag zum Problem der Sonnen- und Schattenblätter.

Von **R. Bötticher †** und **L. Behling.**

(Aus den Botanischen Instituten zu Halle [Saale] und Königsberg [Pr.].)

Mit 13 Abbildungen im Text.

Vorwort

von **K. Mothes.**

In meiner 1932 erschienenen Arbeit über Ernährung, Struktur und Transpiration wurde u. a. das Sonnenblattproblem besprochen und auf Grund der eigenen und der in der Literatur vorhandenen, vielfach aber falsch gedeuteten Analysen darauf hingewiesen, daß die Sonnenblätter aschenreiche Organe sind und ihre Entstehung wohl in erster Linie, wenn auch nicht ausschließlich, einer starken Transpiration zu verdanken ist, die ihrerseits einen gesteigerten Salzstrom in die Blätter lenkt. Die experimentelle Verfolgung dieses Problems wurde im Rahmen einer Staatsexamensarbeit von L. Behling aufgenommen, danach von R. Bötticher auf breiter Grundlage fortgesetzt. R. Bötticher verstarb, noch bevor er die Arbeit völlig druckfertig machen konnte. Im Andenken an diesen treuen Schüler veröffentliche ich nun seine eigenen Ergebnisse. Die Arbeit war bereits im Frühjahr 1935 abgeschlossen. Seitdem haben R. O. Freeland (1936, 1937), O. Schmidt (1936) und H. Fr. Neubauer (1937) wertvolle Beiträge zum gleichen Problem veröffentlicht, die es uns gestatten, einen Teil unseres Materials in verkürzter Form bekanntzugeben, sofern eine Bestätigung wissenschaftlich von Interesse ist. R. Bötticher hatte in Zusammenhang mit der genannten Aufgabe auch neue Untersuchungen über die Stoffausscheidung durch Wurzeln unter dem Einfluß des Lichtentzuges begonnen, die von Luttkus fortgesetzt worden sind und in Kürze erscheinen werden.

A. Fragestellung und Methode.

Sonnenblattstrukturen sind nichts Einheitliches (Mothes 1932). Bald überwiegt der weich-sukkulente Charakter (pachymorphe Typ). Die Blätter sind dann dick, haben große Zellen, ein geringes Interzellularvolumen und sind oft größer als Schattenblätter. Sie zeigen im ganzen die Tracht luxurierender Organe. Wir fanden diesen Typ besonders häufig bei Sumpfpflanzen (z. B. *Ranunculus sceleratus*), aber auch bei Schwimmblättern von Wasserpflanzen (*Potamogeton natans*, *Hydrocharis*). Daneben gibt es einen anderen extremen Typ, der bei relativ geringer Blattdicke kleine, dickwandige Zellen aufweist, ein verhältnismäßig großes Interzellularvolumen besitzt, an Fläche oft ganz bedeutend hinter den Schattenblättern zurücksteht. Solche Typen fanden wir auf den Porphyr- und den Kalkfelsen des mittleren Saalegebietes und auf den Sanddünen unserer ostpreußischen Nehrungen. Hier handelt es sich um einen ausgesprochen xeromorphen Typ, bei dem offenbar häufige Störungen des Wasserhaushaltes und Stickstoffmangel ausschlaggebend sind. Dieselben Pflanzen können aber auch einen mittleren Typ zwischen dem sukkulenten und dem xeromorphen entwickeln, wenn sie auf einem im Wasser- und Nährstoffhaushalt günstigeren Standort sich befinden. Dann bilden sich Sonnenblätter aus, die bei wechselndem Interzellularvolumen beträchtliche Dicke aufweisen, während sie in Blatt- und Zellgröße bald die Schattenblätter übertreffen, bald nicht an sie heranreichen.

Früher wurde gezeigt, wie allgemein Salze auf die Ausbildung der Blattstrukturen einwirken (Mothes). Die Steigerung des Sukkulenzgrades durch Na und K ist seit langem bekannt. Die Zusammenhänge zwischen Licht und Salzaufnahme und Salzwirkung waren aber noch recht unklar. Wurde doch von verschiedenen Forschern eine Beeinflussung der Salzaufnahme durch die Transpiration ganz abgelehnt (Muenscher).

Hier setzten unsere Untersuchungen ein. Es mußte zunächst geklärt werden, ob überhaupt charakteristische Eigentümlichkeiten in Aschengehalt und Aschenzusammensetzung bei Sonnen- und Schattenblättern bestehen. Da hierin die Literaturangaben völlig auseinandergehen, mußte die Ursache dieser Divergenz gesucht werden. Sie wurde in der Bezugsgröße gefunden. Zeigten diese Untersuchungen an Landpflanzen ganz allgemein einen größeren Aschengehalt bei Sonnenblättern bezogen auf Blattzahl und Blattfläche, so waren andererseits die geringen Unterschiede zum Schattenblatt, wenn wir auf Frisch-

gewicht bezogen, so auffällig, daß wir einmal die fördernde Wirkung des Lichtes auf die Salzaufnahme zwar für erwiesen hielten, andererseits aber in der Veränderung der Blattstruktur zum Sonnenblatt hin ein Ausweichen der Pflanze gegenüber einer Salzüberschwemmung zu sehen glaubten. So mußten sorgfältige Reihenanalysen durch eine ganze Vegetationsperiode hindurch angestellt werden, und die morphogenetisch durchaus verschiedenen Ionen wie K und Ca mußten dabei getrennt beobachtet werden. Dann war zu prüfen, ob und in welchem Ausmaße die Transpiration die Salzaufnahme fördert, was (nach dem Abschluß unserer Arbeit) unterdessen schon von Freeland und Schmidt weitgehend geklärt worden ist. In welchem Maße nun das Licht ohne den Umweg über Transpirationssteigerung und Salzaufnahme, Erwärmung und Austrocknung mitwirkt, sollte durch Versuche an submersen Wasserpflanzen und Schwimmpflanzen oder an Landpflanzen bei diffuser Beleuchtung im feuchten Raum zu klären versucht werden, wobei Überhitzung und Austrocknung weitgehend, Transpiration zum Teil ausgeschlossen worden sind.

B. Untersuchungen an submersen Wasserpflanzen.

Die Ergebnisse jener Experimente richtig zu deuten, die die Natur selbst vor unseren Augen anstellt, ist in den meisten Fällen vorerst nur ein selten lohnendes Wagnis, weil die Verknüpfung der zahlreich wirkenden Faktoren und ihre wechselseitige Beeinflussung außerordentlich unübersichtliche Verhältnisse schaffen. Dennoch beginnen wir hier mit einem Naturversuch.

Die Blätter submerser Pflanzen desselben Gewässers sind in hohem Maße übereinstimmenden Lebensbedingungen unterworfen. Bei geschickter Wahl sind Standorte zu finden, die fast allein durch das Lichtklima unterschieden sind. Wir untersuchten Blätter, namentlich von *Potamogeton*-Arten, die bei sonst fast gleichen Bedingungen in verschiedenem Lichtklima sich entwickelt hatten. Das Material entstammte hauptsächlich Elbaltwässern bei Dessau und Saalearmen zwischen Naumburg und Halle. Nach Messungen mit dem Eder-Hechtschen Graukeilphotometer herrscht unter Ufergebüsch oder im Schatten von Uferbäumen eine Lichtintensität, die nur ein Sechstel bis ein Zehntel der über der freien Wasserfläche ausmacht. Blätter von *Potamogeton lucens* und *Potamogeton perfoliatus* von solch unterschiedlichen Standorten zeigten praktisch keine anatomischen Unterschiede, die irgendwelche Beziehungen zu Sonnen- und Schattenblättern der Landpflanzen aufwiesen. Oft waren die Schattenblätter ein wenig dicker (!) (Tab. 1),

die Sonnenblätter waren häufig an Fläche kleiner, was auch für ihre durchschnittliche Größe der oberen Epidermiszellen zutrifft (gelegentlich im Durchmesser bis zu 35% kleiner als bei Schattenblättern). Vielleicht haben wir hier eine Schwächung der Auxinwirkung durch Licht vor uns.

Tabelle 1. Blattdicken von oberen Blättern verschiedener Pflanzen desselben Sees von Schatten- und Sonnenstandorten.

			Durchschnitt
Potamogeton perfoliatus	Schatten	57,4; 58,9; 54,3; 54,2; 59,1; 60,3; 59,2; 56,7; 56,0; 58,8	57,5
	Sonne	59,0; 54,3; 55,7; 50,1; 52,2; 49,9; 49,5; 52,3; 55,8; 51,8	53,0
Potamogeton lucens	Schatten	61,4; 58,3; 62,7; 63,2; 54,1; 62,2; 60,7; 60,0; 58,2; 59,1	60,0
	Sonne	58,2; 64,3; 60,6; 59,1; 59,2; 56,5; 54,9; 55,0; 60,0; 57,8	58,6

Zu prinzipiell gleichen Ergebnissen gelangten wir, wenn wir Blätter derselben Achsen aus verschiedenen Tiefen untersuchten. Es handelte sich in allen Fällen um Pflanzen aus Gewässern, deren Sichttiefe wegen ständiger Trübung durch mineralische Anteile und durch ein sehr reiches Plankton (eutropher Gewässertyp) außerordentlich gering ist. Obwohl besondere Messungen nicht vorgenommen worden sind, ist anzunehmen, daß schon bei 1 m Tiefe ein Lichtverlust von 60—90% vorkommt (vgl. Pearsall, Lundegårdh). Trotz dieser erheblichen Unterschiede im Lichtgenuß zeigten *Potamogeton*-Blätter der gleichen Achse aus der Tiefe und aus dem Oberflächenwasser keine auffälligen anatomischen Unterschiede. Oft waren die Tiefenblätter (Schattenblätter) etwas dicker als die oberen Blätter (Tab. 2).

Tabelle 2. Blattdicke von oberen und unteren Blättern derselben Achsen.

	Untere Blätter (Schattenblätter)		Obere Blätter dicht unter der Wasseroberfläche (Sonnenblätter). Dicke in μ
	m Wassertiefe	Dicke in μ	
Potamogeton perfoliatus	1,10	50,0	44,0
„ „	1,80	62,5	62,0
„ „	2,20	49,7	46,1
Potamogeton compressus	0,50	48,4	44,0
Potamogeton lucens ...	1,00	61,6	59,4
„ „ ...	1,30	57,6	58,0
„ „ ...	1,80	62,3	59,9
Potamogeton crispus ...	0,50	68,2	66,0
Potamogeton lucens	Schattendach	52,8	50,6

Man könnte annehmen, daß hierbei das verschiedene Alter der unteren und oberen Blätter mitspielt und eine Lichtwirkung verdeckt.

Das kann aber nicht der Fall sein, denn wir beobachteten an natürlichen Standorten, daß im flachen Wasser bis zu 2 m sich erstreckende *Potamogeton*-Stengel, deren Spitzenteil durch den Zufall des Standortes im Schatten lag, ebenfalls keine anatomischen Unterschiede zwischen Blättern verschiedener Insertionshöhe aufwiesen. Im botanischen Garten wurden durch künstliche Beschirmung Teile derselben Achsen von *Potamogeton lucens* einem geringeren Lichtgenuß unterworfen (Tab. 2 unten). Auch hierbei waren die Sonnenblätter kleiner und weniger dick als die Schattenblätter. Temperaturwirkungen schieden bei all diesen Naturversuchen und eigenen Experimenten praktisch völlig aus. Endlich wurden eine größere Zahl von Blättern aus der Spitzenzone langflutender *Potamogeton*-Achsen untersucht, die bei sonst gleichen Bedingungen dem Einfluß verschiedener Lichtintensitäten ausgesetzt waren (Tab. 1). Aus all diesen Beobachtungen schließen wir, daß bei submersen Blättern die Lichtintensität ohne direkten und indirekten wesentlichen Einfluß auf die Blattstruktur ist. Starklicht hemmt ein wenig das Streckungswachstum, schafft aber keinerlei Sonnenblattstrukturen.

Daß dieses Ergebnis nicht auf einem völligen Mangel an Plastizität zurückzuführen ist, ergibt sich schon aus der Tatsache, daß gelegentlich auftretende Luftsprosse von *Potamogeton lucens* deutliche Differenzierung von Sonnen- und Schattenblättern zeigen, daß vor allem auch die Schwimmblätter von *Potamogeton natans* ganz im Gegensatz zu den submersen Blättern derselben Pflanze grobe anatomische Unterschiede bei verschiedenem Lichtgenuß aufweisen (s. unten).

Diese Tatsachen ließen uns vermuten, daß entweder der Mangel einer Transpiration von entscheidender Bedeutung für die Einheitlichkeit der Strukturen ist, oder aber, daß das dauernde Umspültsein mit verdünnten Lösungen eine so starke und regelmäßige Stoffausscheidung zur Folge hat, daß die für eine Sonnenblattstruktur ursächlich notwendige Salzanhäufung bei submersen Blättern überhaupt nicht möglich ist. Es wäre durchaus denkbar, daß Starklicht auch ohne die indirekte Einflußnahme über eine gesteigerte Transpiration eine vermehrte Salzaufnahme bedingt, die jedoch bei submersen Pflanzen durch dauernde Wiederausscheidung kompensiert wird und deshalb nicht morphogenetisch sich äußern kann.

Deshalb sind wir zu Versuchen übergegangen, die Pflanzen von vornherein in Lösungen abgestufter Salzkonzentration zu kultivieren. Wir beschränkten uns dabei auf *Potamogeton*-Arten, die wir aus Winterknospen anzogen. Die direkte Überführung der entwickelten Blattriebe

in Lösungen anderer Zusammensetzung wird bei diesen Wasserpflanzen nicht oder nur schwer vertragen. Es lag uns aber viel daran, mit solchen empfindlichen Typen zu experimentieren, die breite Blätter besitzen. *Ruppia*, *Zannichellia*, *Potamogeton*-Arten mit fädig verzweigten Blättern sind z. T. viel leichter zu kultivieren. Aber diese auf Blattrippen reduzierten Blätter zeigen so wenig Konstanz in Struktur und Ausdehnung, daß wir damit gar nicht zu arbeiten vermochten. Die Pflanzen wuchsen in großen Aquarien. Die Nährlösungen wurden auf verschiedenem Wege gewonnen. Standortwasser wurde an der Luft bei normaler Temperatur auf ein bestimmtes Maß durch Verdunstung konzentriert. Zum anderen gingen wir von Prianischnikowscher Nährlösung aus, die wir mit Regenwasser ansetzten. Zusammensetzung: auf 1 Liter NH_4NO_3 0,24 g; $CaSO_4+2H_2O$ 0,34 g; $MgSO_4$ 0,25 g; KH_2PO_4 0,25 g; KCl 0,15 g; $CaCl_2$ anh. 0,15 g. Diese Lösung wurde in Konzentrationen von $^1/_{10}$—5 angewendet.

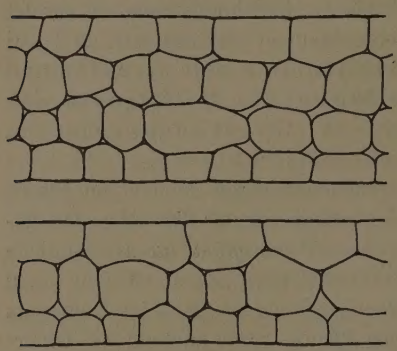


Fig. 1. *Potamogeton lucens;* Blattquerschnitte von Pflanzen aus Lösungen verschiedener Konzentration. Unten: $^1/_2$fache Prianischnikow-Lösung (55 μ dick); oben: $1^1/_2$fache Lösung (68,2 μ dick).

Uns gelangen vor allem Versuche mit *Potamogeton lucens* und *Potamogeton crispus*. Bei gleicher Beleuchtung kultiviert zeigten sich zwischen $^1/_{10}$ und $^1/_2$ Prianischnikow-Lösung keine auffälligen die individuelle Variabilität wesentlich übersteigenden Änderungen der Blattdicken. Bei $1^1/_2$facher Konzentration zeigten *P. lucens* und *P. crispus* unregelmäßige Übergänge vom 3-schichtigen zum 4-schichtigen Blatt (Fig. 1). Bei noch höherer Konzentration ging *P. lucens* ein. *P. crispus* wuchs noch bei der Konzentration 5, jedoch stark gehemmt. Die Internodien waren gestaucht. Die Blätter waren nur noch $^1/_{10}$ so groß wie normale. Sie wiesen eine bedeutende Dicke auf (bis 12-fach). Sie ähnelten den Blättern, die aus Turionen beschrieben sind (vgl. Glück), ohne daß es sich um Axillarstipeln handelte. Die Zahl der Zellreihen war von 3 auf 7 vermehrt. Der Interzellularraum war relativ verringert (Fig. 2).

Eine weitere wesentliche Veränderung war bei *Potamogeton lucens* in einfacher Prianischnikow-Lösung oder in 10-fachem Standortwasser

zu beobachten. Ohne daß die Blätter bei ihrer Entwicklung irgendwann an die Wasseroberfläche kamen, stellten sich auf ihrer Oberseite normal gebaute Spaltöffnungen ein, hinter denen je eine Luftkammer lag (Fig. 3). Nun sind an Landformen verschiedener *Potamogeton*-Arten Spaltöffnungen häufiger beobachtet worden (vgl. K. Goebel: Pflanzenbiolog. Schilderungen, S. 243 u. 239; Glück IV S. 127). Aber bei uns handelte es sich unter keinen Umständen um Landformen. Und es ergibt sich die Frage, ob die Ausbildung der Stomata mit einem Salzeinfluß zusammenhängt, der unter

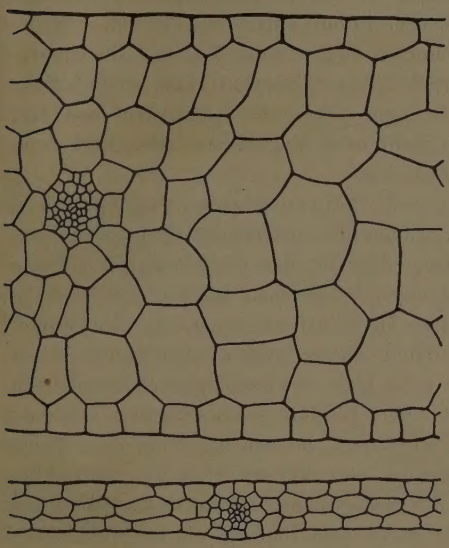


Fig. 2. *Potamogeton crispus;* Blattquerschnitte von Pflanzen aus Lösungen verschiedener Konzentration. Unten: 1fache Lösung (42 μ dick); oben: 5fache Lösung (504 μ dick).

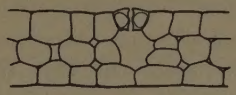


Fig. 3. *Potamogeton lucens*; Blattquerschnitt von einer Pflanze aus einfacher Prianischnikow-Lösung. Es treten Spaltöffnungen auf der Ober- und der Unterseite auf.

normalen Bedingungen vielleicht durch die Hilfe der Transpiration erzielt wird. Das konnte im Zusammenhang mit unserer Arbeit nicht untersucht werden.

Tabelle 3a. Blattdicke unter dem Einfluß verschiedener Salzkonzentrationen.

	$^1/_{10}$ Pr.	1× Pr.	4× Pr.	1× Standort	10× Standort
Potamogeton lucens	55,0	68,2		42,7	64,3
Potamogeton crispus	40,0	42,7	504,0		
„ „	48,2	54,6	377,9	41,5	55,2

Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß der Salzeinfluß sich viel stärker äußert als der Einfluß des Lichtes. Gleichzeitig ist er-

wiesen, daß die submersen Blätter von *Potamogeton* nicht unplastisch sind. Sie reagieren allerdings auf niedere Konzentrationen innerhalb weiter Grenzen nicht, im Gegensatz zu Landpflanzen, bei denen sich Änderungen in der Blattstruktur in klarer Abhängigkeit von jeder Steigerung der Nährlösungskonzentration einstellen können. Wahrscheinlich entnehmen die submersen Blätter dem Medium die mineralischen Stoffe in einer wesentlich höheren Konzentration, so daß Konzentrationssteigerungen des Mediums sich erst auszuwirken beginnen, wenn die des Blattgewebes erreicht oder überschritten ist. Erst dann werden Strukturänderungen bemerkbar.

Die „Stark-Salz-Pflanzen" zeigen einen ausgesprochen pachymorphen Blatttyp. Eigentlich xeromorphe Merkmale fehlen. Wenn wir auch diese Strukturen nicht in allen Einzelheiten mit denen der Sonnenblätter von Landpflanzen vergleichen können, bestehen in der betonten Sukkulenz wichtige Übereinstimmungen. Die Bedeutung des Salzgehaltes für die Ausbildung dieses anatomischen Merkmals ist sichergestellt. Damit ist aber noch nicht erwiesen, ob bei Luftblättern eine ähnliche Übersalzung unter dem Einfluß des Starklichtes zustande kommt. Es bleibt noch unbeantwortet, ob das Licht auf dem Wege über eine Transpirationssteigerung oder auf einem anderen direkten oder auch indirekten Wege die Salzaufnahme fördert, da selbst bei Ausschluß der Transpiration bei submersen Blättern die fehlende Lichtwirkung nichts darüber sagt, ob überhaupt keine Steigerung der Salzaufnahme stattfindet. Denn wie schon betont, könnten alle überflüssigen Salzmengen auch wieder ausgewaschen werden.

C. Untersuchungen an emersen Blättern von Wasserpflanzen.

Es ist sehr eindrucksvoll zu beobachten, wie bei solchen *Potamogeton*-Arten, die submerse Blätter und Schwimmblätter auszubilden imstande sind, der Übergang zum Luftleben ganz allgemein die Variation der Blattstrukturen steigert. Vergleichende Untersuchungen haben für *Potamogeton natans*, *Trapa natans*, *Hydrocharis Morsus ranae* den bedeutenden Einfluß des Lichtklimas auf die Anatomie der Schwimmblätter überzeugend gezeigt. Sonnen-Schwimm-Blätter sind bedeutend dicker, wobei in erster Linie die Zellstreckung, in zweiter eine Vermehrung der Zellschichten mitspielt. Auch in der Fläche sind die Zellen der Sonnenblätter gelegentlich größer (Fig. 4). Wir kultivierten nun Hydrocharis-Pflanzen aus Winterknospen in Prianischnikow-Lösungen der Konzentrationen $^1/_{10}$ bis 2. Die Starksalzblätter waren fast doppelt so dick. Die Palisadenzellen hatten sich ähnlich wie beim Sonnenblatt

stärker gestreckt als die Zellen des Schwammparenchyms. Dabei war die Flächenentwicklung deutlich gehemmt.

Wir gingen nun dazu über, den Einfluß des Lichtes wie auch den der Konzentration der Nährlösung auszuschalten, indem Pflanzen bei gleicher diffuser Beleuchtung, die normal zur Ausbildung von Schattenblättern führte, und gleicher Nährlösung (Teichwasser, das mittels einer Durchströmungsvorrichtung täglich gewechselt wurde) einer verschiedenen Transpiration unterworfen wurden. Die hohen Aquarien mit an Fläche geringem Wasserspiegel kamen mitsamt 3 jungen Hydrocharispflänzchen unter geräumige Glocken, deren Atmosphäre zum Teil durch Schwefelsäure getrocknet wurde. Wir erreichten so erhebliche Unterschiede der relativen Feuchtigkeit, die „Trockenpflanzen" befanden sich in 50%, die „Feuchtpflanzen" in 95% relativer Feuchtigkeit. Der Versuch dauerte fast 2 Monate. Die Pflanzen wuchsen gut, bildeten neue Blätter, die in ausgeprägtester Weise den Einfluß der Lebensbedingungen zeigten. Die Trockenblätter waren an Fläche etwas kleiner, aber wesentlich dicker als die Feuchtblätter, und es war kein anatomischer Unterschied gegenüber Sonnen- und Starksalz-Blättern zu erkennen.

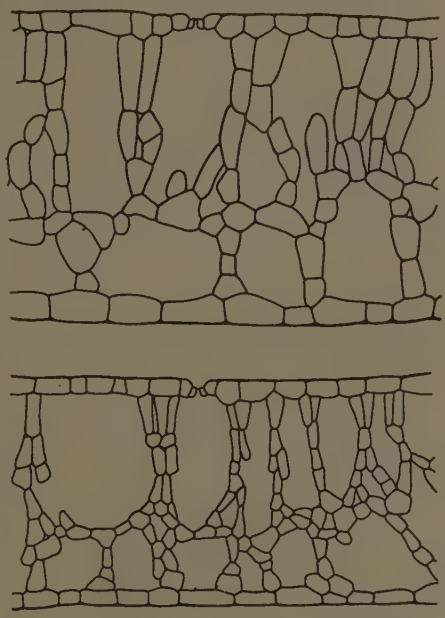


Fig. 4. *Hydrocharis Morsus ranae;* Blattquerschnitte. Oben: Sonnenblatt; unten: Schattenblatt.

Wir führten eine Kaliumbestimmung durch.

Dabei ergab sich, daß auf Blattzahl und Blattfläche bezogen die Trockenblätter wesentlich mehr Kalium enthielten; relativ zum Frischgewicht glichen sich jedoch diese Unterschiede geradezu überraschend aus.

Es kann hiernach kein Zweifel bestehen, daß Licht, Lufttrockenheit und „Salzung", jeder Faktor für sich, zu einem ähnlichen Er-

Tabelle 3b.

	trocken	feucht
Blattfläche von 20 Blättern cm^2.....	156	182
Frischgewicht von 20 Blättern g	2,76	1,9
Frischgewicht von 1000 cm^3.....	17,7	10,4
Kalium mgr von 20 Blättern.....	10,7	7,6
Kalium mgr auf 1000 cm^3.....	68,7	41,7
Kalium mgr in 100 g Frischgewicht ..	389	399

gebnis führt. Die Blätter werden zu Sonnenblättern gestaltet. Es war damit allerdings noch nicht erwiesen, ob das Licht auch über die Transpirationssteigerung wirkt. Da aber bei Wasserpflanzen die Transpiration schwer kontrollierbar ist, da außerdem die Salzauswaschung aus den Blättern die Versuchsergebnisse beeinflussen muß, wenn wir auch dieser Erscheinung bei den Schwimmblättern von *Hydrocharis* nur eine geringe Bedeutung zusprechen möchten, gingen wir zu Sumpfpflanzen über. *Ranunculus sceleratus* entwickelt in gewöhnlicher Atmosphäre bei Schwachlicht (20% Lichtgenuß, Fig. 5) ebenso wie bei verdünnter Nährlösung ($^1/_{20}$ Prianischnikow-Lösung) ausgesprochene Schattenblätter. Die Übereinstimmung mit *Hydrocharis* war eine vollkommene.

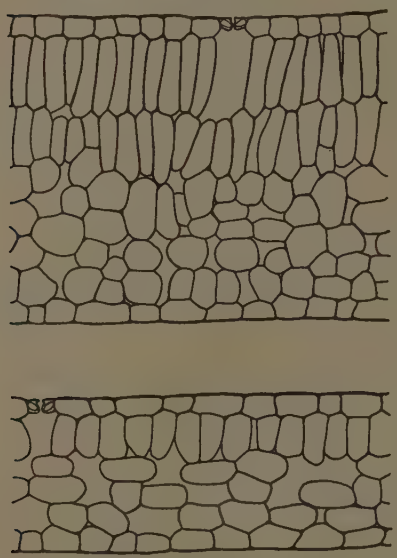


Fig. 5. *Ranunculus sceleratus;* Blattquerschnitte von Pflanzen aus gleicher Nährlösung aber verschiedenem Lichtklima. Oben: Starklichtblatt; unten: Schwachlichtblatt.

Wurden nun *Hydrocharis* und *Ranunculus sceleratus* in einer fast mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre (95—100%), also unter weitgehendem Ausschluß der Transpiration und damit der Transpirationsunterschiede, im diffusen Tageslicht verschiedener Helligkeit (Verhältnis etwa 1:3) kultiviert bei sonst gleichen Ernährungsbedingungen, so konnte keinerlei Unterschied der Blattstrukturen

ermittelt werden. Die Starklichtpflanzen verhielten sich wie die Schattenpflanzen. Alle hatten ausgesprochen zarte, interzellularenreiche Schattenblattstrukturen.

Wir fassen nun die Ergebnisse zusammen: Der Unterschied zwischen submersen Blättern und Luftblättern von Wasser- und Sumpfpflanzen im Verhalten gegenüber dem Licht besteht darin, daß submerse keinen nennenswerten Einfluß einer starken Beleuchtung aufweisen; Schwimmblätter und Luftblätter der Sumpfpflanzen bilden jedoch unter natürlichen Verhältnissen wie auch im Experiment charakteristische Sonnen- und Schattenblätter aus, sofern sie transpirieren können. Im Prinzip ein ähnlicher Effekt wird bei diesen Pflanzen erreicht, wenn bei gleicher Beleuchtung die Transpiration durch Variation der Luftfeuchtigkeit modifiziert wird. Verschiedene Salzkonzentrationen wirken in allen Fällen, auch bei submersen Blättern, in der gleichen Richtung. Der mangelnde Effekt des Lichtes bei Submersen kann also nicht auf einer zu geringen Plastizität beruhen.

Es liegt nahe, in allen beobachteten Fällen die von xeromorphen Elementen freie Sonnenblattstruktur der Wasser- und Sumpfgewächse auf eine verstärkte Salzaufnahme zurückzuführen. Daß bei den Submersen der Lichteffekt ausblieb, könnte entweder auf einer Wiederauswaschung der zu viel aufgenommenen Salzmengen beruhen, oder darauf, daß das Licht allein über die Transpiration wirkt. Hierfür sprechen die Untersuchungen an *Hydrocharis* und *Ranunculus sceleratus*: Diese Pflanzen zeigen am Standort deutliche Lichteinflüsse; unter Ausschluß der Transpiration ist jedoch keinerlei Modifikation der Blattstruktur durch das Licht festzustellen, sofern zu geringe Intensitäten, die Hungerzustände zur Folge haben, vermieden werden. Es ist danach auch wenig wahrscheinlich, daß in diesen Fällen das Licht primär das Wachstum des Blattes anregt, wodurch sekundär eine vermehrte Salzzufuhr in Gang kommt. Dann müßte auch unter Ausschluß der Transpiration bei submersen und bei Schwimm- und Sumpfblättern eine Lichtprägung erreicht werden. Das ist aber nicht der Fall. Obwohl wir annehmen, daß das Licht nicht direkt, sondern indirekt, nicht einfach, sondern vielfältig in Stoffwechsel und Gestaltung eingreift, sprechen doch alle Versuche an Wasserpflanzen dafür, daß das Licht bei der Gestaltung der Sonnenblätter in erster Linie über Transpiration und Salzaufnahme sich auswirkt. Wir wollen diese Schlüsse aber nicht verallgemeinern, ohne an typischen Landpflanzen diese Verhältnisse überprüft zu haben.

D. Der Aschengehalt der Sonnen- und Schattenblätter von Bäumen unter natürlichen Bedingungen.

Bevor wir zu Experimenten an Landpflanzen übergingen, erschien es nötig, die klassischen Objekte der Sonnenblattforschung, die Blätter unserer einheimischen Laubbäume, auf ihren Aschengehalt hin zu untersuchen. Wir mußten uns dabei vor allem mit den viel zitierten Analysen von Leiningen auseinandersetzen, der auf 100 g Trockensubstanz bezogen in Lichtblättern 6,89 g, in Schattenblättern 7,07 g Asche gefunden hatte. Diese sicher sehr sorgfältig durchgeführten und auf die einzelnen Elemente ausgedehnten Analysen haben vielfältige Deutungen erfahren, von denen vor allem die Behauptung, daß die stärkere Transpiration der Lichtblätter ohne Einfluß auf die Salzaufnahme ist, interessiert. Arens hat dann neuerdings auch darauf hingewiesen, daß vielleicht die kutikuläre Exkretion die Aschenwerte beeinflußt.

Wir haben zunächst orientierende Versuche an verschiedenen Laubbäumen durchgeführt, wobei sorgfältig darauf geachtet worden ist, daß die Sonnen- und Schattenblätter wohl an verschieden belichteten Stellen der Krone (Süd- und Nordseite) entnommen wurden, daß sie aber doch etwa gleich hoch inseriert waren. Wir haben darauf verzichtet, extremste Unterschiede im Material aufzusuchen. Im Gegenteil entsprechen alle unsere Ergebnisse einer durchschnittlichen Sonnen- und Schattenblattqualität. Das erscheint uns wichtig; denn es ist durchaus möglich, daß z. B. extreme Schattenblätter wirklich Hungerformen sind und daß in der äußersten Spitze des Baumes zu den besonderen Lichtverhältnissen auch andere Bedingungen der Windwirkung und Wasserversorgung treten.

In Tab. 4 haben wir einen Teil unserer Befunde vermerkt. Es ist in allen Fällen ein sehr großes Blattmaterial verarbeitet worden (200—1100 Blätter!), um alle individuellen Schwankungen weitgehend auszugleichen. Die von dem gleichen Baum zu verschiedenen Terminen entnommenen Proben (1, 2, 3, 4) entstammen auch ungefähr denselben Ästen, so daß sie ohne weiteres die Veränderungen im Laufe der Entwicklung zeigen.

Die absoluten Werte, auf 100 frische Blätter bezogen, zeigen bei den Sonnenblättern ein zum Teil wesentlich höheres Frisch- und Trockengewicht, aber auch einen höheren Aschenwert. Damit ist im ganzen eine gesteigerte Wüchsigkeit, gleichzeitig aber auch eine vermehrte Mineralstoffaufnahme erwiesen. Beim Bezug auf Frischgewicht zeigt sich

Tabelle 4. Analysen von Sonnen- und Schattenblättern einheimischer Bäume:
Fagus silvatica, Quercus pedunculata, Tilia platyphyllos.

Nr.	Pflanze		Tag	Blatt-zahl	Absolute Werte				100 Blätter haben			auf 100 g Frischgew.		auf 100 g Wasser	auf 100 g Trocken-gew.
					Frisch-gew.	Trocken-gew.	Wasser-gehalt	Asche	Frisch-gew.	Trocken-gew.	Asche	Trocken-gew.	Asche	Asche	Asche
1	*Fagus* (Halle)	Schattenblatt	29. V. 32	475	36,009	12,85	23,159	0,7265	7,5	2,70	0,152	35,68	2,01	3,13	5,65
		Sonnenblatt		444	49,959	19,46	30,499	1,0530	11,25	4,38	0,237	38,10	2,10	3,40	5,46
2	*Fagus* (Halle)	Schattenblatt	5. VI. 32	600	41,717	14,772	26,945	0,7675	6,95	2,46	0,127	35,41	1,83	2,84	5,19
		Sonnenblatt		460	52,822	21,310	31,512	1,212	11,48	4,63	0,263	40,30	2,29	3,84	5,68
3	*Fagus* (Halle)	Schattenblatt	12. VI. 32	455	33,90	11,70	22,20	0,745	7,45	2,57	0,16	34,5	2,19	3,35	6,30
		Sonnenblatt		393	45,36	18,49	26,87	1,194	11,50	4,70	0,30	40,7	2,60	4,40	6,45
4	*Fagus* (Halle)	Schattenblatt	13. VIII. 32	900	77,93	29,40	48,53	2,785	8,65	3,26	0,309	37,7	3,57	5,70	9,47
		Sonnenblatt		1100	118,90	51,40	67,50	4,989	10,80	4,67	0,450	43,2	4,19	7,39	9,70
5	*Fagus* (Leißling)	Schattenblatt	13. VI. 32	236	77,27	25,99	51,28	1,406	32,70	11,00	0,59	33,6	1,82	2,70	5,40
		Sonnenblatt		202	70,88	29,20	41,68	1,640	35,80	14,40	0,81	41,1	2,31	3,90	5,60
6	*Quercus*	Schattenblatt	23. VIII. 32	600	129,60	46,97	82,63	3,715	21,60	7,82	0,619	36,2	2,86	4,49	7,90
		Sonnenblatt		500	155,59	60,55	95,04	4,630	31,10	12,11	0,926	38,9	2,97	4,87	7,60
7	*Tilia*	Schattenblatt	2. IX. 32	350	122,77	38,44	84,33	4,354	35,07	10,98	1,240	31,3	3,54	5,16	11,32
		Sonnenblatt		350	158,95	59,71	99,24	6,231	44,15	16,58	1,730	37,56	3,92	6,27	10,43

Tabelle 5. Analysen von Knospen von Sonnen- und Schattenzweigen.

Nr.	Pflanze	Lichtgenuß	Tag	Knospenzahl	Absolute Werte				100 Knospen haben			auf 100 g Frischgew.		auf 100 g Wasser	auf 100 g Trockengew.
					Frischgew.	Trockengew.	H_2O-Geh.	Asche	Frischgew.	Trockengew.	Asche	Trockengew.	Asche	Asche	Asche
1	*Fagus*	Schatten	22. IV. 32	28	2,084	0,82	1,264	0,037	7,44	2,92	0,13	39,3	1,79	2,90	4,50
		Sonnen		15	3,470	1,37	2,100	0,0525	23,13	9,13	0,35	39,4	1,51	2,50	3,80
2	*Fagus*	Schatten	25. IV. 32	52	5,730	2,056	3,674	0,0985	11,01	3,95	0,18	34,13	1,70	2,68	4,70
		Sonnen		52	13,700	4,835	8,865	0,1988	26,30	9,29	0,38	35,2	1,40	2,23	4,10
3	*Fagus*	Schatten	26. II. 33	300	13,799	8,34	5,459	0,310	4,599	2,78	0,103	60,43	2,24	5,69	3,71
		Sonnen		300	28,710	18,18	10,530	0,600	9,57	6,06	0,200	63,3	2,09	5,69	3,30
4	*Quercus*	Schatten	30. IV. 32	306	13,104	4,039	9,065	0,215	4,28	1,31	0,070	30,80	1,64	2,37	5,30
		Sonne außen . . .		427	22,595	6,784	15,811	0,341	5,29	1,58	0,079	30,02	1,50	2,15	5,02
		So. an der Spitze		360	23,101	6,870	16,231	0,344	6,4	1,9	0,095	29,70	1,48	2,11	5,01

immer noch ein höheres Trockengewicht und ein erhöhter Aschengehalt, obwohl bereits ein gewisser Ausgleich bei den Aschenwerten zu bemerken ist. Wenn wir aber das Trockengewicht den Berechnungen zugrunde legen, sind die Aschenmengen bei Sonnen- und Schattenblättern fast gleich. Das ist die Bestätigung der Leiningenschen Ergebnisse.

Wir schließen daraus, daß die Sonnenblätter zwar bedeutend mehr Asche aufnehmen; aber durch ein verstärktes Wachstum, durch eine allgemeine Zunahme des Blattgewebes und seiner Trockensubstanz ist eine gewisse Verdünnung der Salzkonzentrationen erreicht, wobei zunächst unentschieden bleiben muß, ob die Salzaufnahme oder das Wachstum die primäre Ursache der Erscheinung ist.

Auch zeigt sich, daß mit zunehmendem Alter alle Blätter ihre

Aschenmengen vermehren, sie erhöhen nicht im gleichen Maße ihre Trockengewichte, so daß die Aschenwerte während der Entwicklung unabhängig von der Bezugsgröße steigen.

Da nun durch die Untersuchungen von Nordhausen und Engler erwiesen ist, daß die Sonnenblattstruktur bei unseren Bäumen nicht ohne weiteres im Laufe einer einzigen Entwicklungsperiode umgestimmt werden kann, daß die Blätter bereits in der Knospenlage in hohem Maße determiniert sind, so daß sich wesentliche qualitative Änderungen, vor allem eine Vermehrung der Zellschichten im Querschnitt, nicht mehr abspielen, lag es nahe, nun die Knospen der Sonnen- und Schattenzweige selbst zu untersuchen (Tab. 5).

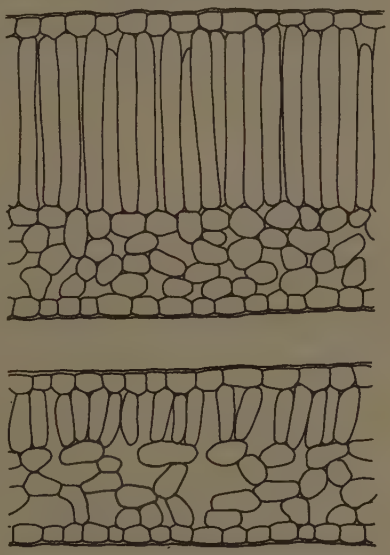


Fig. 6. *Acer platanoides;* Blattquerschnitte vom (oben) Sonnenblatt und (unten) Schattenblatt.

Dabei ergab sich die Schwierigkeit, daß die Sonnenknospen schon im Winter wesentlich größer sind, dickere Blattanlagen haben und weiter entwickelt sind. So haben sie bei der Buche (V, 3) bereits Ende Februar ein doppeltes Frischgewicht gegenüber den Schattenknospen. Dem entsprechen auch Trockengewicht und Asche, so daß bei Bezug auf diese Gewichte die Aschenwerte konstant oder sogar in den Sonnenknospen etwas niedriger ausfallen.

Auf Grund dieser Analysen ist nicht zu entscheiden, ob wirklich der verstärkte Transpirationsstrom in den Sonnenzweigen primär zu einer Anhäufung von Salzen führt, die ihrerseits ein verstärktes Wachstum zur Folge hat, oder ob umgekehrt ein durch die stärkere Belichtung gefördertes Wachstum vermehrte Ansprüche an den Salznachschub stellt. Diese zweite Erklärung mag unwahrscheinlich sein, sofern wir die Ergebnisse an Wasserpflanzen zum Vergleich heranziehen. Da zeigten submerse Blätter trotz sehr verschiedener Beleuchtung bei Ausschluß von Transpiration und Salzanhäufung keine wesentlichen Struktur- und Größenunterschiede. Zu einer strengen Beweisführung mußten noch sorgfältige Analysen der Aschenaufnahme während einer ganzen

Tabelle 6. Analysen von Spitzahorn-

Datum	Blätter	Blattzahl	Frischgewicht	Trockengewicht		Gesamtasche		
				g	% des Frischgewichts	g	% des Frischgewichts	% des Trockengewichts
1934								
25. IV.	Sonne	40	23,96	6,04	25,21	0,407	1,70	6,74
	Schatten	32	23,21	5,55	23,91	0,396	1,71	7,13
11. V.	Sonne	16	46,69	13,89	29,75	0,919	1,97	6,62
	Schatten	50	46,15	11,11	24,07	0,830	1,79	7,47
2. VI.	Sonne	16	46,38	16,65	35,90	1,295	2,79	7,77
	Schatten	37	41,80	13,15	31,46	1,003	2,40	7,63
20. VI.	Sonne	14	54,75	20,23	36,95	1,669	3,05	8,25
	Schatten	32	36,66	11,44	31,21	0,921	2,51	8,05
1933								
26. VII.	Sonne	—	100,00	39,24	39,24	4,204	4,204	10,71
	Schatten	—	100,00	31,01	31,01	3,258	3,258	10,51
15. VIII.	Sonne	24	50,00	19,67	39,34	2,361	4,722	12,00
	Schatten	54	50,00	16,83	33,66	1,743	3,486	10,36
5. IX.	Sonne	19	46,10	19,33	41,93	1,908	4,140	9,87
	Schatten	42	38,00	13,04	34,32	1,340	3,52	10,27
2. X.	Sonne	17	40,20	16,26	40,45	1,740	4,33	10,70
	Schatten	34	32,00	11,17	34,91	1,246	3,89	11,15
8. X.	Sonne	20	41,05	17,35	42,26	2,120	5,16	12,22
	Schatten	32	26,14	8,70	33,28	0,913	3,49	10,49
13. X.	Sonne	21	38,19	15,95	41,76	2,207	5,78	13,83
	Schatten	33	28,53	9,13	32,00	1,165	4,08	12,76
20. X.	Sonne	24	41,47	17,55	42,32	2,650	6,39	15,09
	Schatten	40	22,57	6,90	30,57	0,821	3,64	11,90
25. X.	Sonne	20	30,75	15,13	49,20	1,960	6,37	12,95
	Schatten	33	24,45	7,53	30,79	0,866	3,54	11,50

Wachstumsperiode gemacht und die Abhängigkeit der Salzaufnahme von der Transpiration geprüft werden.

Den Jahresgang der Salzaufnahme untersuchten wir bei Sonnen- und Schattenblättern von *Acer platanoides*, die keine ungewöhnlich starken, aber deutliche Strukturunterschiede zeigten (Fig. 6). Die Palisaden waren beim Sonnenblatt doppelt so lang, im ganzen dichter zusammengefügt, das Interzellularsystem also relativ geringer entwickelt. Auch hier wurden die Blätter immer von Ästen gleicher Stammhöhe geerntet. Der Versuchsbaum stand nahe am Laboratorium, so daß ohne Wasserverlust sofort nach der Ernte mit Analysen begonnen werden konnte. Die Blätter wurden vor der Analyse sorgfältig mit einem Pinsel oder einem weichen Tuch von allen Staubteilen befreit. Zur

blättern im Laufe ihrer Entwicklung.

Kalzium			Kalium			Auf 100 Blätter umgerechnet				
g	% des Frisch-gewichts	% der Asche	g	% des Frisch-gewichts	% der Asche	Frisch-gewicht g	Trocken-gewicht g	Gesamt-asche g	Ca g	K g
0,050	0,209	12,28	0,159	0,665	39,07	59,90	15,10	1,018	0,125	0,398
0,055	0,237	13,88	0,110	0,474	27,77	72,65	17,37	1,239	0,172	0,344
0,157	0,336	17,08	0,237	0,507	25,80	291,81	86,81	5,744	0,981	1,481
0,134	0,291	16,19	0,229	0,497	27,59	92,30	22,22	1,660	0,268	0,458
0,285	0,616	22,01	0,205	0,443	15,86	289,88	104,06	8,094	1,781	1,281
0,210	0,523	21,83	0,145	0,347	14,46	112,86	35,51	2,708	0,591	0,392
0,418	0,765	25,03	0,292	0,534	17,49	390,90	144,44	11,946	2,985	2,085
0,188	0,513	20,44	0,147	0,401	15,96	114,74	35,80	2,883	0,588	0,460
0,945	0,945	22,48	0,623	0,623	14,90	—	—	—	—	—
0,677	0,677	20,80	0,538	0,538	16,50	—	—	—	—	—
0,543	1,086	23,00	0,350	0,700	14,82	208,60	82,02	9,845	2,264	1,460
0,366	0,732	20,99	0,309	0,618	17,73	92,50	31,14	3,226	0,677	0,572
0,443	0,961	23,22	0,227	0,493	11,89	242,50	101,68	10,036	2,330	1,194
0,269	0,707	20,08	0,229	0,602	17,08	91,20	31,29	3,216	0,646	0,549
0,366	0,911	21,04	0,188	0,468	10,80	236,40	95,61	10,231	2,152	1,105
0,224	0,701	18,00	0,229	0,717	18,38	94,10	32,84	3,658	0,659	0,673
0,528	1,283	24,91	0,150	0,365	7,07	205,25	86,75	10,600	2,640	0,750
0,188	0,718	20,59	0,127	0,485	13,91	81,69	27,23	2,858	0,588	0,398
0,559	1,465	25,33	0,122	0,320	5,53	181,43	75,92	10,505	2,661	0,581
0,217	0,762	18,63	0,225	0,790	19,31	86,45	27,66	3,530	0,658	0,682
0,619	1,492	23,36	0,182	0,439	6,86	172,93	73,18	11,051	2,581	0,759
0,186	0,824	22,41	0,136	0,602	16,40	56,43	17,25	2,053	0,465	0,340
0,475	1,544	24,23	0,137	0,445	6,99	153,75	75,65	9,800	2,375	0,685
0,217	0,888	25,06	0,127	0,519	14,66	74,08	22,82	2,624	0,658	0,385

Analyse gelangten wesentlich weniger Blätter als bei den vorhergehenden Versuchen, da sich jene hohe Zahl nicht als nötig erwies. Außer dem Frisch- und Trockengewicht wurde die Gesamtasche ermittelt und der Calzium- und Kaliumgehalt. Die Untersuchungen erstreckten sich auf 2 Jahre. Die Frühjahrsentwicklung konnte erst 1934 verfolgt werden, die Sommerentwicklung schon 1933. Dadurch ergibt sich kein völlig ungestörter Kurvenverlauf, was man auch nicht erwarten kann. Zwischen 1934 und 1933 ist des öfteren ein Bruch im gleichmäßigen Verlauf festzustellen. So liegen die Aschenwerte 1934 im ganzen höher, eine Folge des ausgesprochen sonnigen und trockenen Klimas.

Das ist jedoch für unsere Schlüsse ohne wesentliche Bedeutung. Die Ergebnisse sind in Tab. 6 und den Fig. 7—12 zusammengestellt.

Der Gesamtaschengehalt auf 100 Blätter (Fig. 7) bezogen steigt bis zum Herbst an, fällt dann leicht ab (herbstliche Auswanderung), der Anstieg bei den Sonnenblättern ist anfangs sehr steil, später aber flach, bei den Schattenblättern im Frühjahr auch etwas stärker als im Sommer. So haben die Sonnenblätter durchweg mehr Asche als die Schattenblätter. Das gilt auch, wenn man auf Frischgewicht bezieht (Fig. 8), doch sind dann durch das starke Dickenwachstum der Sonnenblätter die Unterschiede schon recht ausgeglichen. Die Sonnenblätter sind eben um das doppelte schwerer, so verschwindet bei der Wahl des Frischgewichtes als Bezugsgröße der an sich sehr bedeutende Mehrgehalt an Aschenstoffen.

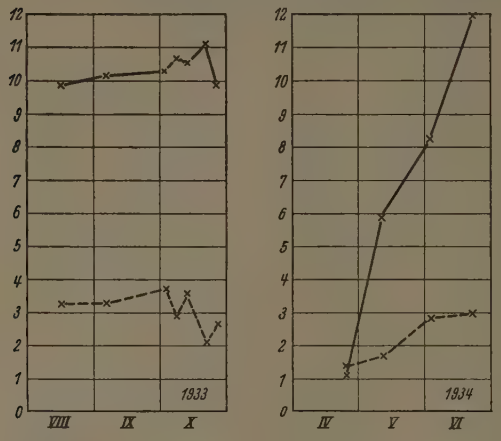


Fig. 7. Gesamtaschengehalt in g (Ordinate) in 100 Spitzahornblättern. Abszisse: Monat —— Sonnenblatt, ····· Schattenblatt.

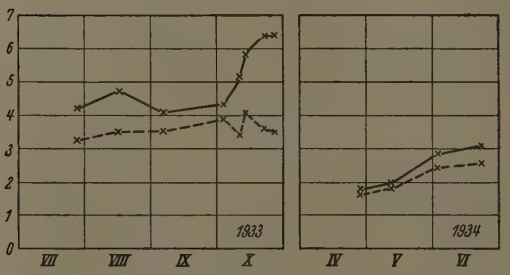


Fig. 8. Gesamtaschengehalt in g (Ordinate) in 100 g Frischgewicht der Ahornblätter, —— Sonnenblatt, ····· Schattenblatt.

Im Prinzip liegen die Aschenwerte ähnlich, wenn wir sie auf Trokkengewicht beziehen (Tab. 6). Das besondere Wachstum der Sonnenblätter beruht demnach nicht auf einem Anfüllen der Zellen mit Wasser, sondern ebenso auf einer entsprechenden Trokkengewichtszunahme.

Von besonderem Interesse sind nun die fortlaufenden Analysen des Kalium- und Calziumgehaltes. Als Ionenantagonisten haben sie auch sehr verschiedene morphogenetische Wirkung (vgl. Kisser, Mothes, Schneider). Die Kaliumwerte von 100 Blättern (Fig. 9) zeigen bei

Sonnenblättern zuerst einen starken Anstieg, aber schon mit Beendigung des Wachstums eine ebenso starke Abnahme. Das Kalium wird wieder entfernt. Bei den Schattenblättern setzt die Auswanderung jedoch erst im Herbst ein. Bezogen auf Frischgewicht (Fig. 10) sind die Unterschiede zwischen Sonnen- und Schattenblatt wiederum weitgehend ausgeglichen. Das Absinken der K-Werte setzt auch hier in den Sonnenblättern recht früh ein. Es muß dahingestellt bleiben, ob es sich um eine Rückwanderung oder um eine kutikuläre Ausscheidung und Auswaschung durch Regen handelt, wie sie Arens beobachtet hat. Nach der Stellung, die unsere Versuchsblätter in der Baumkrone haben, ist es wenig wahrscheinlich, daß die Sonnenblätter der Beregnung stärker ausgesetzt waren als die Schattenblätter. Das Calzium zeigt bei dem wiederkehrenden Unterschied zwischen Sonnen- und Schattenblättern bis zum Spätherbst einen Anstieg (Fig. 11), wenn auch beim Bezug auf Frischgewicht (Fig. 12) einige Unregelmäßigkeiten auftreten (vgl. Ramann 1912). Der herbstliche Ca-Verlust der Blätter ist geringer als der K-Verlust.

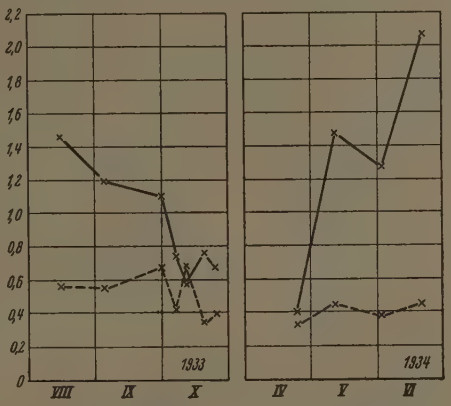


Fig. 9. Kaliumgehalt in g in 100 Ahornblättern. —— Sonnenblatt, ····· Schattenblatt.

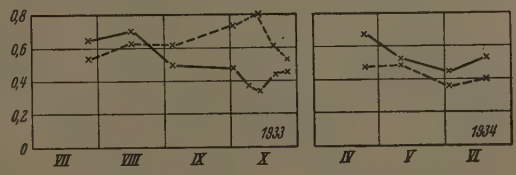


Fig. 10. Kaliumgehalt in g in 100 g Frischgewicht der Ahornblätter. —— Sonnenblätter, ····· Schattenblätter.

Was nun den Quotienten K : Ca betrifft, so ergibt sich, daß im jungen Blatt Kalium sehr überwiegt, wie das schon häufig beobachtet worden ist. Später nimmt jedoch das Calzium stärker zu als das Kalium, und gegen Ende der Vegetationsperiode wird durch die bevorzugte Kaliumauswanderung vor allem in den Sonnenblättern der Quotient extrem günstig für das Calzium.

Man gewinnt den Eindruck, daß die stärker ansteigende Ca-Kurve ein Ausdruck dafür ist, daß dieses Element durch

den Transpirationsstrom leichter mitgeschleppt wird als das Kalium (vgl. Schmidt). Ob die anfänglichen Unterschiede des Quotienten im Sonnen- und Schattenblatt zufällig sind oder einer Gesetzmäßigkeit entsprechen, wagen wir nicht zu entscheiden. Auch ist es recht schwer, das K : Ca-Verhältnis in seiner morphogenetischen Rolle richtig zu deuten; denn wir müssen damit rechnen, daß nur ein bescheidener Teil des Ca als Ion vorhanden ist und damit im Ionenantagonismus eine Rolle spielt. Ein anderer Teil ist unlöslich gebunden. Die qualitative Wirkung der Aschenbestandteile zu beurteilen setzt voraus, daß wir nicht über die Gesamtmengen der Elemente, sondern über die wirksamen Anteile Genaues wissen. Zu diesem Zweck müßten Preßsaftuntersuchungen gemacht werden, zu denen wir im Rahmen dieser Arbeit nicht kamen.

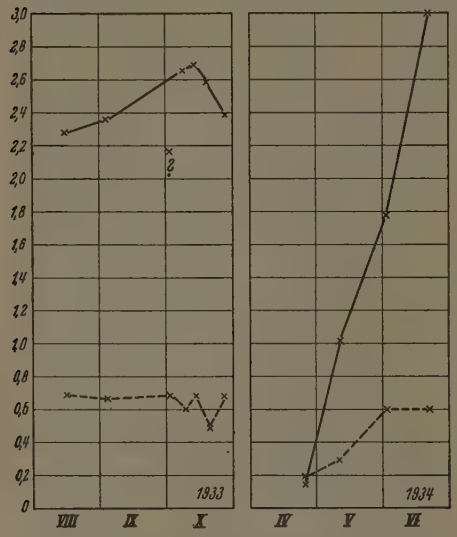


Fig. 11. Calziumgehalt in g in 100 Ahornblättern. —— Sonnenblätter, ····· Schattenblätter.

Gesamtasche, Kalium und Calzium verhalten sich danach in großen Zügen ähnlich. Die stärkere Versorgung der Sonnenblätter ist so deutlich, daß man sie nicht mehr übersehen kann. Und es ist wie in den oben beschriebenen Versuchen ebenso klar, daß die Pflanze die Salzanhäufung in gewissem Ausmaße durch entsprechende Vermehrung des Frischgewichtes, des Wassergehaltes und der Trocken-

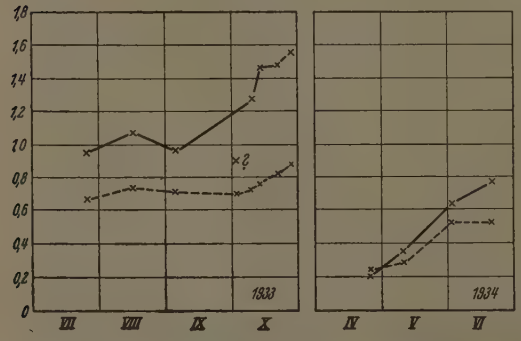


Fig. 12. Calziumgehalt in g in 100 g frischen Ahornblättern. —— Sonnenblätter, ····· Schattenblätter.

substanz kompensiert (vgl. Steiner). Dabei bleibt beim Ahorn der Aschegehalt auch dann noch in den Sonnenblättern höher, wenn wir auf Frischgewicht oder Trockengewicht beziehen. Damit ist die Deutung, die Leiningen seinen Ergebnissen gab, widerlegt. Man kann keinesfalls davon sprechen, daß die Schattenblätter mehr Nährstoff brauchen, um ihre Entwicklung einigermaßen zu ermöglichen und um die geringe Lichtmenge, die sie genießen, ausnutzen zu können. Die Schattenblätter beim Ahorn zeigen keinerlei Krankheitssymptome. Und es dürfte selbst in Zweifel zu setzen sein, ob man sie mit Küster (1925) als Hemmungsbildungen bezeichnen darf, sofern man darunter Organe versteht, die nicht voll und normal entwickelt sind. Es kommt in der Natur immer auf die Leistung im Sinne der Lebenserhaltung des Individuums oder der Art an. Und da wissen wir heute, daß Schattenblätter trotz ihres zarten Baues assimilatorisch stark tätig sein können. Die gesamte Harmonie der Baumkrone zeugt ja davon.

So bleibt nun noch zu erklären, wie das Zusammenspiel von höherem Aschegehalt und massigerem Blattbau zu verstehen ist. Ist die höhere Salzmenge Voraussetzung des stärkeren Wachstums, oder zieht das stärkere Wachstum mehr Salz in die Blätter?

Zur Beantwortung dieser Frage muß man im Auge behalten, daß bei unseren Bäumen die Entscheidung über Sonnen- oder Schattenblattstruktur bereits vor der Knospenöffnung gefallen ist. Die Prägung der Blattanlagen ist im Herbst des Vorjahres weitgehend vollendet. Es ist nicht völlig unwichtig, aber auch nicht ausschlaggebend, wie viel Aschenstoffe die zum Sonnenblatt bestimmten Blattanlagen bei ihrer weiteren Entwicklung erhalten. Wenn nun die Knospenanlagen selbst schon einer stofflichen Beeinflussung im obigen Sinne ausgesetzt sein sollen, kann man sich das so vorstellen, daß durch die starke Transpiration nicht nur das Blattgewebe selbst, sondern auch die in der Nähe liegenden Zweiggewebe und Achselknospen mit Aschenstoffen angereichert werden vor allem, sobald die herbstliche Rückwanderung des Kaliums usw. die naheliegenden Bezirke überschwemmt, was noch eingehend untersucht werden muß. Vielleicht ist in dieser Hinsicht die sehr starke spätsommerliche Abnahme des K-Gehaltes im Sonnenblatt von besonderer Bedeutung. Wenn wir auch geneigt sind, dem Aschengehalt eine erste Rolle bei der Prägung der Sonnenblattstrukturen zuzuschreiben, wollen wir nicht übersehen, daß vor allem bei den Bäumen und ausdauernden Gewächsen überhaupt noch andere Faktoren mitspielen, z. B. die von Huber festgestellten großen Verschiedenheiten in der Leitfläche der Sonnen- und Schattenzweige. Es

sind recht komplizierte Verhältnisse in einem solchen Sonnenzweig, bei deren Schaffung das Licht nicht nur über Transpiration und Salznachschub indirekt wirken mag.

Andererseits möchten wir nicht meinen, daß das Licht vor allem über den assimilatorischen Apparat durch Bildung von Baustoffen mitgestaltet, die Anlaß zu Wachstum und Salznachschub geben. Ganz abgesehen davon, daß dann auch eine Lichtwirkung bei den submersen Gewächsen zu erwarten wäre, ist doch das photosynthetische System der Pflanze in einem geradezu enormen Maße anpassungsfähig. Blätter mit „Schattenstruktur" vermögen durchaus hohe assimilatorische Leistung zu vollbringen. Sie arbeiten wahrscheinlich im Ganzen ökonomischer als die Sonnenblätter.

Es kommt nach diesen Analysen unter natürlichen Verhältnissen nun auf das Experiment an zu zeigen, ob die Transpirationssteigerung durch Licht wirklich einen verstärkten Salznachschub mit sich bringt, ob Schattenblätter ohne Änderung des Lichtklimas allein durch Salzung in Sonnenblätter verwandelt werden können, ob andererseits das Licht unter Ausschaltung einer Transpirationsförderung eine Erhöhung des Aschenwertes der Blätter bewirkt.

E. Der Einfluß der Transpiration auf die Salzaufnahme.

In älteren Arbeiten wird fast allgemein die Auffassung vertreten, daß eine intensive Transpiration auch die Salzaufnahme fördert (vgl. Stahl 1894, Brenner 1900, Hesselmann 1904, Jost 1913), wenn auch andererseits betont wird, daß die Wasserdurchströmung keine Voraussetzung der Salzaufnahme überhaupt ist (z. B. Sachs). Zu einem Teil wurzelten diese Auffassungen nicht in experimentellem Material, sondern waren mehr deduktiver Art. Die Beziehungen zwischen Wasseraufnahme und Resorption der Aschenstoffe wurden als etwas Selbstverständliches betrachtet und teleologisch gedeutet. Sie wurden daher durch neuere experimentelle Untersuchungen leicht erschüttert, und es ist erstaunlich, wie diese zentrale Frage der gesamten Ernährung der Landpflanzen bis in die neueste Zeit so verschieden beantwortet worden ist.

So fand Muenscher (1922) bei Gerstenpflanzen trotz variierter Transpiration einen ungefähr gleichen Aschegehalt relativ zum Trockengewicht und schloß, daß zwischen Mineralstoffaufnahme und Wasseraufnahme keine Beziehung besteht. Prat (1923) jedoch kam durch Leitfähigkeitsmessungen zum entgegengesetzten Schluß. Kreyzi

(1932) studierte bei Gelbhafer die Aufnahme von Phosphorsäure und kam zu Ergebnissen wie Muenscher, während Lundegårdh (1932), Frey-Wyßling (1935), Kostytschew (1931) dem Transpirationsstrom mehr oder weniger eine praktische Bedeutung für die Aufnahme der Salze zusprechen möchten. Auch zeigte Germar, daß die Anreicherung von SiO_2 in den Blättern in hohem Maße von der Transpiration abhängig ist, was soweit gehen kann, daß zur Ablagerung von 1 g SiO_2 in allen Fällen ungefähr 10 Liter Wasserumsatz nötig sind.

Angesichts dieser Meinungsverschiedenheiten und des geringen bisher vorliegenden Materials schien es uns wichtig, dieses Problem erneut anzugreifen. Nach Abschluß unserer Arbeiten (1935) erschienen wichtige Veröffentlichungen von Schmidt und von Freeland, die, mit sehr verschiedenen Methoden arbeitend, beide zu dem Ergebnis kamen, daß der Transpirationsstrom eine erhebliche Bedeutung für die Salzresorption haben kann. Schmidt arbeitete in kurzfristigen Experimenten, Freeland in langfristigen. Uns erschienen beide Wege nötig; wir haben sie gleichzeitig beschritten. Wir können diese neueren Arbeiten in allen wesentlichen Teilen bestätigen. Deshalb bringen wir nur einige unserer Versuche, soweit sie im Rahmen unserer besonderen Fragestellung wichtig erscheinen.

a) Versuche an bewurzelten einjährigen Pflanzen.

Wir arbeiteten zunächst mit Mais und Gerste. 3—4 Wochen alte Pflanzen waren in vollständiger Prianischnikow-Lösung vorkultiviert und wurden zum Versuch in Zweisalzlösungen gebracht, die entweder KNO_3 und $Ca(NO_3)_2$ oder KH_2PO_4 und $Ca(NO_3)_2$ enthielten. Diese Lösungen wurden täglich gewechselt, die aus ihnen aufgenommene Wassermenge wie auch der Schwund an Ionen bestimmt, Kalium wurde nach Tischler (1931) als Kaliumnatriumkobaltnitrit gefällt, Ca nach Emmert (1933) und Phosphorsäure nach Zinzadze (1930) bestimmt. Im ersten Versuch wurden je 3 gleichgroße gesunde Maispflanzen verwendet; sie standen alle in hellem, aber doch diffusem Licht unter Glocken, unter denen die relative Feuchtigkeit der Atmosphäre durch Schwefelsäure verschiedener Konzentration variiert wurde. Sie betrug durchschnittlich 50% und 85%. Die Versuchslösungen (150 ccm für 3 Pflanzen) enthielten in 1 ccm 78 γ K und 12 γ Ca als Nitrate. In Tab. 7 sind die Ergebnisse dargestellt.

Die stark transpirierenden Pflanzen nahmen absolut mehr (50%) Kalium auf, die Aufnahme erfolgte aber nicht proportional der Wasser-

Tabelle 7. Transpiration und Salzaufnahme beim Mais.
Versuchsbeginn am 26. IX. 1934. a) hell und trocken; b) hell und feucht.

Analyse vom		27.	28.	29.	30. IX.	1. X.	2.	3.	4.
Wasserverlust durch Transpiration (in g)	a)	24,4	10,6	18,7	16,9	15,0	27,2	32,0	21,4
	b)	10,0	5,0	10,5	8,5	7,9	7,2	10,6	7,9
Kalium in 1 ccm (in γ)	a)	69,0	58,5	54,6	64,0	46,7	31,2	15,6	15,6
	b)	73,5	65,0	64,0	71,0	57,8	40,6	32,5	31,2
Kaliumaufnahme in mg (in je 24 Std.)	a)	3,034	3,545	4,531	3,172	5,395	7,869	9,859	9,694
	b)	1,41	2,275	2,772	1,653	3,487	5,902	7,169	7,266

	a)	**b)**
Gesamtaufnahme an Kalium vom 27. IX. bis 4. X.	47,099 mg	31,934 mg
Gesamttranspiration	166,2 ccm	67,6 ccm
Aufgenommenes Kalium auf 100 ccm transpiriertes Wasser	28,3 mg	47,2 mg
Frischgewicht der Pflanzen bei Versuchsbeginn	17,70 g	18,21 g
Frischgewicht der Pflanzen bei Versuchsende	22,50 g	22,37 g
Frischgewichtszuwachs	4,8 g	4,16 g
Frischgewichtszuwachs auf 100 mg aufgenommenes Kalium	10,2 g	13,0 g

saugung; schwach transpirierende Pflanzen übertrafen bei dieser Relation die anderen. Die Pflanzen wuchsen auch verschieden, der Zuwachs entspricht nicht völlig der K-Aufnahme, ist zwar bei den „Trockenpflanzen“ größer, aber auf die Kaliumaufnahme bezogen haben die „Feuchtpflanzen“ günstiger gearbeitet. In beiden Fällen stieg die Kaliumaufnahme während der ersten Tage an, eine immer wieder beobachtete Erscheinung, wenn wir Pflanzen aus einer konzentrierteren Lösung der Vorkultur in die verdünnte des Versuches überführten. Aber auch diese Aufnahmehemmung in den ersten Versuchstagen ist unter dem Einfluß der starken Transpiration bedeutend geringer.

Um nun dem Einwand zu begegnen, daß die in einer zu feuchten Atmosphäre stehenden Pflanzen Schädigungen des Stoffwechsels und eine Hemmung des Wachstums zeigen, die sekundär die Kaliaufnahme abstoppen lassen, wurden in einer anderen Versuchsserie je 5 Maispflanzen täglich vertauscht. Sie waren also nach jedem Wechsel der Nährlösung je einen Tag bald der trockenen, bald der feuchten Atmosphäre ausgesetzt (Tab. 8a u. b). Dabei zeigte sich nun unter Ausschluß aller individuellen Schwankungen, die im Versuchsmaterial begründet sein könnten, eine ausgesprochene Beeinflussung der K-Aufnahme durch die Transpiration. Relativ zum umgesetzten Wasser zeigen sich auch hier die Feuchtpflanzen überlegen. Die beiden Versuchspflanzenportionen (8b) haben insgesamt fast die gleiche Menge Wasser umgesetzt und fast die gleiche Menge Kalium aufgenommen, ein Beweis für die Einheitlichkeit des Materials.

Tabelle 8a. Transpiration und Salzaufnahme beim Mais mit regelmäßigem Wechsel der Versuchsbedingungen.

a) hell und trocken. b) hell und feucht. I und II: Nummern der Gefäße.

		30. IX. 34	1. X. 34	2. X.	3. X.	4. X.
Wasserverlust durch Transpiration (in g)	a)	I 17,0	II 10,8	I 24,9	II 37,8	I 21,3
	b)	II 6,9	I 4,6	II 3,8	I 7,6	II 8,8
Kalium in 1 ccm (in γ)	a)	I 52,0	II 45,3	I 50,0	II 23,5	I 24,0
	b)	II 55,7	I 48,5	II 57,8	I 45,0	II 37,5
Aufnahme an Kalium (in mg) in je 24 Stunden	a)	I 4,784	II 5,394	I 5,445	II 9,062	I 8,612
	b)	II 3,729	I 4,648	II 3,250	I 5,292	II 6,405

Gesamtaufnahme an Kalium vom 30. IX. bis 4. X.	**a)** 33,297 mg		**b)** 23,324 mg	
Gesamtaufnahme an Kalium vom 30. IX. bis 3. X.	24,685 mg		16,919 mg	
Gesamttranspiration vom 30. IX. bis 4. X.	111,8	ccm	31,7	ccm
Gesamttranspiration vom 30. IX. bis 3. X.	90,8	ccm	22,9	ccm
Aufgenommenes Kalium bezogen auf 100 ccm transpiriertes Wasser vom 30. IX.—4. X.	29,8	mg	73,6	mg
Aufgenommenes Kalium bezogen auf 100 ccm transpiriertes Wasser vom 30. IX.—3. X.	25,2	mg	73,7	mg

Tabelle 8b. Das Verhalten der 5 Maispflanzen aus Tab. 8a bei täglichem Wechsel der Versuchsbedingungen.

	I		II	
Frischgewicht vor Versuch	19.25	g	18,93	g
Frischgewicht nach Versuch	22,95	g	22,15	g
Zunahme an Frischgewichtssubstanz während der Versuchsdauer	3,7	g	3,22	g
Transpiration 30. IX. bis 3. X.	54,1	ccm	59,3	ccm
Aufnahme an Kalium vom 30. IX. bis 3. X.	20,169	mg	21,435	mg

In einem dritten Versuch wurde im Prinzip wie beim vorhergehenden verfahren (regelmäßiger Wechsel der Bedingungen durch Austausch der Pflanzen). Es wurden jedoch KH_2PO_4 und $Ca(NO_3)_2$ verabreicht (in 1 ccm 117,3 γ K, 120,2 γ Ca und 93,2 γ P). Der Wechsel erfolgte zuerst alle 36 Stunden, später alle 72 Stunden. Bestimmt wurde diesmal außer K auch Ca und PO_4. Die Ergebnisse sind in Tab. 9a und b dargestellt. Aus Tab. 9b geht die Einheitlichkeit des Materials hervor. Tab. 9a zeigt uns, daß bei recht verschiedener Transpiration prinzipiell das gleiche Ergebnis wie in den vorhergehenden Versuchen erzielt worden ist, daß aber die Ca-Aufnahme wesentlich stärker vom Transpirationsstrom beeinflußt ist als K und P. Während die relative K-Aufnahme bezogen auf 100 cm^3 transpiriertes Wasser bei Trocken- und Feuchtpflanzen sich wie 27 zu 89 verhält, ist dieser Quotient beim Ca wie 10:12. Damit ist erwiesen, daß beim Mais und unter den hier gewählten Bedingungen die Ca-Aufnahme dem Transpirationsstrom folgt, während dies vom Kalium nur in bescheidenerem Maße gilt. Gleichzeitig ergibt sich, daß die von Kreyzi behauptete

Unabhängigkeit der Phosphorsäureresorption vom Transpirationsstrom nicht in dieser Eindeutigkeit gilt.

Tabelle 9a. Transpiration und Salzaufnahme beim Mais bei regelmäßigem Wechsel der Bedingungen.

Versuchsbeginn am 17. X. a) hell und trocken; b) hell und feucht.

Analyse vom		19.	20.	22.	23.	26.	29. X.
Wasserverlust durch Transpiration (in g)	a) I	18,3	18,2	22,8	20,1	47,9	53,0
	b) II	3,8	4,9	5,0	4,5	6,2	11,2
K-Aufnahme (in mg)	a) I	5,887	7,750	7,394	6,476	10,550	9,913
	b) II	3,674	4,710	4,269	4,718	7,673	6,547
Ca-Aufnahme (in mg)	a) I	2,409	2,426	2,054	2,924	4,696	3,519
	b) II	0,486	0,473	0,209	0,788	0,789	1,513
P-Aufnahme (in mg)	a) I	3,536	3,765	3,104	2,380	6,741	6,744
	b) II	1,509	2,343	1,800	1,800	5,927	6,277

		absolut	auf 100 ccm transpiriertes Wasser
Gesamttranspiration	a)	180,3 ccm	—
	b)	35,6 ccm	—
Gesamtaufnahme an K	a)	47,970 mg	a) 26,5 mg
	b)	31,591 mg	b) 88,7 mg
Gesamtaufnahme an Ca	a)	18,028 mg	a) 10,0 mg
	b)	4,258 mg	b) 11,9 mg
Gesamtaufnahme an P	a)	26,270 mg	a) 14,5 mg
	b)	19,323 mg	b) 54,3 mg

Tabelle 9b.

	I	II
Frischgewicht vor dem Versuch	29,8 g	29,8 g
Frischgewicht nach dem Versuch	35,5 g	34,7 g
Zunahme an Frischgewichtssubstanz	5,7 g	4,9 g
Trockengewicht der Pflanzen nach Versuch	3,372 g	3,035 g
„ in % des Frischgewichts	9,22 g	9,01 g
Gesamttranspiration	115,8 ccm	106,3 ccm
Gesamtaufnahme an K	39,806 mg	39,755 mg
„ an Ca	11,933 mg	10,353 mg
„ an P	23,468 mg	22,125 mg

So klar die Ergebnisse am Mais sind, dürfen die Schlußfolgerungen nicht ohne weiteres verallgemeinert werden. Es gibt artspezifische Unterschiede. So verhielt sich Gerste bei dem gleichen Versuchsbedingungen in bezug auf Ca wesentlich anders. Ca wurde praktisch überhaupt nicht aufgenommen, so daß ein Einfluß der Transpiration nicht feststellbar war. Die K-Aufnahme war durch den Wasserumsatz weniger gefördert als beim Mais (Tab. 10). Tab. 11 zeigt, daß dieselbe Gerste eine deutliche Steigerung der Salzaufnahme durch die Transpiration erfährt.

Tabelle 10. Transpiration und Salzaufnahme bei Gerste.
Versuchsanordnung wie bei 9, Wechsel der Versuchsbedingungen!
Versuchsbeginn: 2. XI. Je 40 Gerstenkeimlinge (Alter 10 Tage): Frischgewicht 13,3 g.

Versuchsbedingungen:	Trocken		Feucht	
Analyse vom	7. XI.	12. XI.	7. XI.	12. XI.
Gefäß Nr.	I	II	II	I
Wasseraufnahme	24,2	41,5	6,2	6,4
K-Aufnahme (mg)	9,292	9,155	7,835	6,595
Ca-Aufnahme (mg).....	0,049	— 0,035 !	0,028	0,008
P-Aufnahme (mg)	2,72	2,184	1,14	1,648
Gesamttranspiration	65,7 ccm		12,6 ccm	
Gesamtaufnahme an K .	18,447 mg		14,43 mg	
„ „ Ca .	— !		— !	
„ „ P ..	4,904 mg		2,788 mg	

Tabelle 11. Transpiration und Salzaufname bei Gerste.
Je 50 Gerstenkeimlinge (10 Tage alt); Beleuchtung gleichmäßig. Versuchsbeginn 8. XI.

Standort:	Trocken				Feucht			
Frischgewicht von je 50 Gerstenpflanzen	14,2 g				14,4 g			
Analyse vom	10.	13.	16.	19. XI.	10.	13.	16.	19. XI.
Transpiration (in g)	12,3	26,5	24,5	20,0	3,3	5,1	7,9	5,8
Frischgewicht der Pflanzen am 19. XI.	17,13 g				17,70 g			
Frischgewichtszunahme	2,93 g				3,30 g			
Trockengewicht der Pflanzen am 19. XI.	1,855 g				1,840 g			
Trockengewicht in % der Frischsubstanz	10,83				10,40			
Gesamtasche der Pflanzen am 19. XI. .	0,1352 g				0,1165 g			
Gesamtasche in % der Trockensubstanz	7,29				6,33			
Gesamtasche in ‰ der Frischsubstanz	7,89				6,58			
Gesamttranspiration vom 8. XI. bis 19. XI.	83,3 ccm				22,1 ccm			

Mit diesen Versuchen ist erwiesen, daß bei einjährigen und relativ jungen, wachsenden Pflanzen ein starker Transpirationsstrom die Aufnahme der Aschenstoffe zum Teil ganz erheblich zu fördern vermag. Die Mineralstoffe werden aktiv und passiv aufgenommen. Beim Kalium überwiegt die Aktivität der Pflanze, beim Calzium (wenigstens beim Mais) tritt das passive Mitgerissenwerden durch den Transpirationsstrom deutlich in Erscheinung. Hierdurch werden vor allem die Befunde von Schmidt be-

stätigt. Es ist eine wichtige Grundlage zur Beurteilung des Sonnenblattproblems geschaffen. Bevor wir aber zu allgemeineren Schlüssen kommen, sollen noch einige langdauernde Versuche an mehrjährigen Pflanzen, besonders an Ästen von Bäumen beschrieben werden, da es noch unentschieden war, ob die Ergebnisse kurzfristiger Versuche an Gramineen ohne weiteres auf die klassischen Objekte der Sonnenblattforschung übertragen werden können.

b) Versuche an Stecklingen von Laubbäumen.

Wir haben uns zunächst 1- und 2jähriger Keimpflanzen von *Eiche* und *Ahorn* bedient, um die Abhängigkeit der Salzaufnahme vom Transpirationsstrom zu prüfen. Jedoch zeigten sich große individuelle Unterschiede und eine geringe Beeinflußbarkeit des Mineralstoffwechsels, worauf vielleicht die geringe Einwirkung extremer Lichtverhältnisse auf die Struktur der Blätter von Keimpflanzen zurückzuführen ist, wie sie Engler beobachtet hat. Diese Bäume sind in den Blattstrukturen keineswegs unmodifizierbar, das zeigt schon die Tatsache wohl ausgebildeter Sonnen- und Schattenstrukturen an einer gut entwickelten Krone. Auch die von uns überprüften Einflüsse einer konzentrierteren Nährlösung auf 1- und 2jährige Pflanzen sprechen dafür. Trotzdem war ganz allgemein die fördernde Wirkung des Transpirationsstromes auf die Salzaufnahme so gering, daß sie kaum die individuelle Schwankung übertraf.

Anders verliefen die Versuche mit *Populus pyramidalis*. Noch vor dem Trieb (2. März 1934) wurden gleichmäßig entwickelte, in Länge, Dicke und Knospenzahl gut übereinstimmende 1jährige Zweige von derselben Stelle der Baumkrone geschnitten, auf etwa 40 cm gekürzt und zu je sechs auf zwei Versuchsportionen verteilt, ihre Gewichte bestimmt und zunächst in Leitungswasser zur Ausbildung von Wurzeln veranlaßt, was nach 11 Tagen der Fall war. Nun kamen die Zweige in Prianischnikow-Lösung von halber Konzentration. Die Gläser wurden mit Watte verschlossen und mit Kakaobutterparaffin abgedichtet, so daß eine direkte Verdunstung der Nährlösung nicht möglich war. Die Wurzeln von *Populus* vertragen diesen Abschluß von der Luft ohne Schwierigkeiten, während andere Pflanzen (z. B. Mais) sich recht empfindlich zeigen. Die Zweige standen unter Glasglocken, wobei für regelmäßige Lufterneuerung gesorgt war. Die relative Feuchtigkeit wurde auf 90% bzw. 40% reguliert. Der Versuch dauerte 40 Tage. Jeweils nach 8 Tagen wurden die Lösungen gewechselt und die aufgenommenen Nährlösungsmengen ermittelt (Tab. 12).

Tabelle 12. Transpiration und Salzaufnahme bei Zweigstecklingen von *Populus pyramidalis*.

Standort:	trocken	feucht
Frischgewicht der Zweige am 12. III. 34 (in g) ...	52,3	54,0
Anzahl Blätter bei Versuchsende (21. IV.)	181	305
Gesamttranspiration in g	1020	406
Frischgewicht der Blätter in g	14,81	22,33
Trockengewicht der Blätter in g	3,38	4,05
Trockengewicht in % des Frischgewichts	22,82	18,14
Gesamtasche der Blätter in g	0,388	0,325
Asche in % des Frischgewichts	2,62	1,46
Asche in % des Trockengewichtes	11,8	8,03
K in den Blättern (in mg)	85	73
K in ‰ des Frischgewichts	5,74	3,27
K in ‰ des Trockengewichts	25,9	18,0
K in % der Asche	21,9	22,5
Ca in den Blättern (in mg)	45	37
Ca in ‰ des Frischgewichts	3,031	1,657
Ca in ‰ des Trockengewichts	13,3	9,1
Ca in % der Asche	11,6	11,4
K : Ca = 100 :	53,0	50,6

Während bei der Trockenkultur sich die oberen Blätter außerordentlich kräftig und groß entwickelten, dafür aber die unteren Knospen entweder überhaupt nicht trieben oder weniger und kleinere Blätter ausschütteten, war in der Feuchtkultur der Unterschied geringer und die Gesamtzahl der entwickelten Blätter größer. Die Unterschiede in der Gesamttranspiration waren trotz des geringeren absoluten Blattfrischgewichtes der Trockenkultur bedeutend. Dem entsprachen auch die aufgenommenen Aschenmengen, die natürlich zu einem Teil auch den Zweigen selbst entstammt haben mögen. Namentlich relativ zum Frischgewicht werden die Unterschiede deutlich, und es zeigt sich, daß das Frischgewicht keineswegs der vermehrten Salzaufnahme entsprechend nachgab, so wie wir das in den früher beschriebenen Versuchen beobachtet hatten. Zwischen Kalium und Calzium bestand kein wesentlicher Unterschied; sie verhielten sich wie die Gesamtasche. Bei *Populus* wird also die erhöhte Salzkonzentration nicht durch Vermehrung des Blattgewichtes ausgeglichen, was durchaus dem Befund entspricht, daß selbst bei extrem verschiedener Belichtung unter natürlichen Bedingungen niemals ein auffälliger Unterschied zwischen Sonnen- und Schattenblättern beobachtet werden konnte. *Populus* gehört zum

unplastischen Typ. Es kann in diesem Falle also unmöglich eine primäre Wachstumsförderung die Ursache für den verstärkten Salznachschub sein.

F. Der Einfluß des Lichtes auf die Salzaufnahme.

Nachdem nun erwiesen ist, daß eine verstärkte Transpiration eine erhöhte Aufnahme von Aschenstoffen bewirkt, ohne daß die Aschenmengen der Transpiration proportional sind, ergab sich nunmehr die Notwendigkeit nachzuprüfen, ob das Licht auch bei Ausschluß des Transpirationsfaktors ebenfalls die Salzaufnahme fördert. Dabei mußte beachtet werden, daß die im Experiment zu wählenden Unterschiede der Beleuchtung nicht so extrem ausfallen, daß wesentliche Ernährungsunterschiede sich bemerkbar machen; denn es steht zu erwarten, daß ein mit organischen Baustoffen ungenügend versehenes Organ auch den Einstrom von mineralischen Stoffen korrelativ bremst. Wir arbeiteten zunächst mit *Zea Mays*. Wie in den oben beschriebenen Versuchen wurden junge Pflanzen in Zweisalzlösungen [KH_2PO_4 und $Ca(NO_2)_3$] unter Glocken mit einer fast mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre gebracht. Die Kontrolle der relativen Feuchtigkeit ergab 95—100%. Die eine Portion erhielt nur etwa 50% des Lichtgenusses der anderen; in jedem Fall handelte es sich um diffuses Licht, so daß eine nennenswerte Beeinflussung der Temperatur im abgeschlossenen Raum der Glocken nicht in Frage kam. Die Portionen wurden täglich ausgetauscht, so daß keine Rede davon sein konnte, daß die Schwachlichtergebnisse auf Hungerzuständen beruhten.

Gemessen wurden die aufgenommene Wassermenge und der Schwund an Kalium und Calzium.

Tab. 13 enthält die Ergebnisse. Das Material nach Frischgewicht und Zuwachs, aber auch nach Wasserumsatz und Aufnahme von K und Ca beurteilt, war recht gleichwertig. Die Gesamttranspiration blieb sehr gering, die Aufnahme von K war dennoch sehr hoch, und zwar im „Lichte“ über doppelt so hoch als im „Schatten“. Diese Mehraufnahme an K kann unmöglich auf eine gesteigerte Transpiration zurückgeführt werden. Diese war allerdings im „Lichtversuch“ um 10% höher. Das kann jedoch nach unseren früheren Versuchen nicht viel bedeuten. Wir schließen daraus, daß Licht die K-Aufnahme wesentlich beeinflußt. Ganz anders ist das Verhalten des Ca. Im „Licht“ wird nur wenig mehr aufgenommen als im „Schatten“. Licht scheint bei kurzdauernden Versuchen nicht auf die Ca-Aufnahme einzuwirken. Ganz anders waren die Ergebnisse bei variierter Transpiration

unter gleicher Beleuchtung: So zeigte sich wohl allgemein eine Förderung der Aufnahme von K und Ca durch die Transpiration, aber Ca wurde ungleich mehr beeinflußt.

Tabelle 13. Einfluß des Lichtes auf die Salzaufnahme beim *Mais* (täglicher Wechsel der Bedingungen; 100 cm³ Nährlösung enthält 11,73 mg K und 12,02 mg Ca).

a) viel Licht und feucht; b) wenig Licht und feucht. I und II: Nummern der Gefäße.

Datum		5.		6.		7.		8.		9.		10.		11.		12.
Verlust durch Transpiration in g..	a)	I 0,8	II	1,4	I	1,0	II	0,9	I	1,5	II	1,8	I	1,0	II	1,2
	b)	II 0,7	I	1,2	II	0,9	I	1,2	II	1,6	I	1,1	II	0,8	I	1,3
K-Aufnahme in mg....	a)	I 2,562	II	2,931	I	4,297	II	4,831	I	6,250	II	5,871	I	6,301	II	6,152
	b)	II 2,521	I	2,324	II	2,942	I	3,100	II	3,802	I	3,674	II	4,223	I	4,159
Ca-Aufnahme in mg ...	a)	I 0,367	II	0,294	I	0,401	II	0,435	I	0,399	II	0,421	I	0,450	II	0,439
	b)	II 0,288	I	0,303	II	0,421	I	0,396	II	0,387	I	0,366	II	0,437	I	0,441

		absolut	auf 100 cm³ transp. Wasser
Gesamttranspiration	a)	9,6 g	—
	b)	8,08 g	—
Aufnahme an K	a)	65,930 mg	687
	b)	26,745 mg	303
Aufnahme an Ca	a)	3,208 mg	33,4
	b)	3,039 mg	34,5

	I	II
Frischgewicht vor Versuch	32,2 g	31,9 g
„ nach Versuch	36,3 g	36,2 g
„ Zuwachs	4,1 g	4,3 g
Gesamttranspiration	9,1 g	9,3 g
Gesamtaufnahme an K	32,667 mg	33,273 mg
Gesamtaufnahme an Ca	3,123 mg	3,124 mg

Wir kommen damit im Prinzip zum gleichen Ergebnis wie Schmidt, obwohl unsere Versuchsanstellung eine andere war. Der tägliche Wechsel der Bedingung für jede Versuchsportion sichert eine Ausschaltung aller störenden Nebenwirkungen, wie sie vor allem durch die individuelle Verschiedenheit des Materials und allmählich auftretende Hungerzustände sich äußern können.

Danach kann für *Mais* kein Zweifel sein, daß bei stärkerer Beleuchtung eine erhöhte Salzaufnahme einmal durch gesteigerte Transpiration, dann aber auch durch eine weitere Lichtwirkung einsetzt, die morphogenetisch von Bedeutung sein muß.

Wir haben diese Ergebnisse bei *Coleus* nachgeprüft, mit dem wir bereits früher (Mothes 1932) gute Ergebnisse erzielt hatten. Wir

'gingen von Stecklingen aus, die in Sand zur Bewurzelung gebracht und dann in $^1/_3$ Prianischnikow-Lösung überführt worden waren. Je fünf Pflanzen gehörten zu einer Versuchsportion. Die Versuche wurden auf längere Zeit ausgedehnt, die Bedingungen wurden im Gegensatz zum vorigen Versuch nicht gewechselt. In der Versuchsserie I wurde bei gleicher guter diffuser Beleuchtung die Luftfeuchtigkeit wie oben variiert und eine extrem verschiedene Transpiration erzielt. Bei II wurde bei gleicher Feuchtigkeit die Beleuchtung differenziert. Die Pflanzen mit „wenig Licht" hatten etwa 50% des Lichtgenusses der Pflanzen mit „viel Licht". In der Serie III und IV wurde die Konzentration der Salze im Verhältnis 3:1 gewählt, bei III wurde eine durchschnittliche Feuchtigkeit von 95%, bei IV von 85% erreicht.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tab. 14 zusammengestellt. Die Frischgewichtszunahme wurde gefördert durch eine gewisse Trockenheit (Ia gegen Ib), durch viel Licht (IIa→IIb), durch höhere Konzentration der Nährlösung (IIIa→IIIb und IVa→IVb). Die Trockengewichte entsprachen etwa den Frischgewichtszunahmen, so daß die Trockengewichte ausgedrückt in % der Frischgewichte geringere Schwankungen aufwiesen. Hohe relative Trockengewichte wurden bei hoher Salzgabe (IIIa und IVa) und bei trockener Luft und guten Lichtbedingungen (Ia) erreicht. Die Aschenwerte sind absolut, aber auch relativ zum Frisch- und Trockengewicht deutlich verschieden. Trockene Luft, viel Licht und hohe Salzgabe steigerten jedes für sich und in Kombination den relativen Aschengehalt. Wenn wir aber die Mengen von K, Ca und P betrachten, soweit sie erst während des Versuches den Nährlösungen entzogen worden sind, ergibt sich doch ein wesentlich anderes Bild im Verhältnis zur Gesamtasche. Im ganzen hält die Frischgewichtszunahme Schritt mit der K-Aufnahme. Allein bei wenig Licht (IIb) ist die K-Aufnahme relativ geringer. Die Feuchtkultur nimmt andererseits aus einer konzentrierten Nährsalzlösung ungewöhnlich viel K auf. Im Grunde ähnlich verhält sich auch das neu aufgenommene Ca. Die Abweichungen werden deutlich, wenn wir das Verhältnis K:Ca betrachten. Man kann sagen: immer, wenn die K-Aufnahme relativ gefördert ist, sinkt gleichzeitig die Ca-Aufnahme ab (Ib, IIa, III).

Wenn viel Salz geboten wird und gleichzeitig eine bescheidene Transpiration möglich ist, steigt der relative Ca-Wert ganz besonders an (63% vom K). Die Wasserumsätze sind sehr verschieden, obwohl zu wünschen war, daß sie in einigen Fällen noch extremer ausgefallen wären. Allgemein kann man sagen, daß die Transpiration die Salz-

Tabelle 14. Salzaufnahme und Transpiratiion bei *Coleus*.

Versuchsdauer	43 Tage		43 Tage		46 Tage		46 Tage	
	Ia	Ib	IIa	IIb	IIIa	IIIb	IVa	IVb
konstante Bedingungen	hell, mittl. Salzgabe		feucht, mittl. Salzgabe		hell, feucht		hell, weniger feucht	
veränderte Bedingungen	trocken	feucht	viel Licht	wenig Licht	viel Salz	wenig Salz	viel Salz	wenig Salz
Frischgewicht, vor dem Versuch, in g	14,3	15,2	15,0	14,7	15,6	14,1	14,0	15,3
Frischgewicht, nach dem Versuch, in g	46,7	35,1	42,3	31,1	52,5	39,2	50,7	42,1
Frischgewichtszunahme in g	32,4	19,9	27,3	16,4	36,9	25,1	35,7	26,8
Trockengewicht in g	7,28	4,88	6,32	3,89	8,50	5,83	8,05	5,72
Trockengewicht in % des Frischgewichtes	15,6	13,9	14,9	12,5	16,2	14,9	15,9	13,6
Asche in mg	1018	645	828	455	1514	812	1344	799
Asche in % des Frischgewichtes	2,18	1,836	1,953	1,463	2,89	2,072	2,66	1,91
Asche in % des Trockengewichtes	14,0	13,2	13,1	11,7	17,8	13,9	16,7	14,0
K-Aufnahme in mg	163,4	117,4	143,4	69,4	237,5	132,0	212,7	125,3
Ca-Aufnahme in mg	92,4	48,3	55,2	30,6	108,2	58,3	103,2	74,1
P-Aufnahme in mg	41,3	22,7	42,0	23,5	64,3	34,1	49,0	44,5
transpirierte Wassermenge in g	1420	312	497	251	267	291	459	612
mg K auf 100 g Frischgewichtszunahme	536	589	526	423	660	526	593	468
mg Ca „ „ „ „	285	241	202	186	295	232	373	277
mg P „ „ „ „	127	114	153	143	179	136	137	166
mg K auf 100 cm^3 transp. Wasser	11,6	37,6	28,9	27,6	89,9	45,4	28,9	20,5
mg Ca „ „ „ „ „	6,5	15,5	11,2	12,2	40,7	20,1	22,5	12,1
mg P „ „ „ „ „	2,9	7,3	8,5	6,8	23,7	11,7	10,7	7,3
K : Ca = 100 :	52	41	38	44	46	44	49	59

aufnahme fördert. Aber ein sehr großer Wasserumsatz reißt relativ wenig K mit in die Pflanze (Ia = 11,6). Umgekehrt kann ein extrem geringer Wasserstrom (IIIa) bedeutende K-Mengen mit sich führen. Die in die Wurzeln eindringende Lösung ist dann reicher an K als die Nährlösung, was auch in Tabelle 13 schon festgestellt werden konnte. All das gilt auch für das Ca, jedoch mit dem Unterschied, daß Ca sich viel „passiver" verhält im Vergleich zum K. So wird es bei starker Transpiration relativ leichter mitgerissen als das K.

Aus diesem Versuch möchten wir wiederum entnehmen, daß die Pflanze einer Salzanhäufung durch eine Frischgewichtszunahme weitgehend ausweicht. Anatomisch handelt es sich auch bei *Coleus* um die Ausbildung sukkulenter Strukturen. Eine Steigerung der Salzaufnahme wird aber auf verschiedenstem Wege erreicht, einmal durch forcierten Wasserumsatz (Ia), dann aber auch durch eine hohe Salzkonzentration (IIIa, IVa), endlich auch durch Licht (IIa). Jedoch ist gerade hier die Wirkung insofern unklar, als bei viel Licht trotz gleicher Feuchtigkeit eine höhere Transpiration erzielt wird (IIa : IIb = 497 : 251). Auch im Versuch der Tabelle 13 war ein Unterschied bemerkbar, doch war er klein und zu vernachlässigen. Im langdauernden *Coleus*-Versuch ist der Unterschied jedoch groß. Es kommt danach zur Lichtwirkung die Transpirationswirkung hinzu. Wenn wir aber das Verhältnis K : Ca berücksichtigen, finden wir bei IIa einen relativ geringen Ca-Gehalt. Da die Aufnahme von Ca aber durch Transpiration besonders gefördert wird, die von K aber durch das Licht, ist wahrscheinlich, daß im Versuch IIa tatsächlich eine Lichtwirkung neben der Transpirationswirkung vorhanden ist.

Es ist auch unwahrscheinlich, daß die verstärkte K-Aufnahme im Starklicht die Folge einer primär ausgelösten Wachstumssteigerung ist. Denn relativ zum Frischgewicht hat IIa mehr K als IIb. Daraus schließen wir, daß primär die K-Aufnahme gefördert ist, die vielleicht sogar sekundär fördernd auf die Vermehrung von Frisch- und Trockengewicht wirkt.

Ganz wie beim *Mais* wirkte danach auch bei *Coleus* sowohl Licht als auch Transpiration unabhängig voneinander fördernd auf die Salzaufnahme, wenigstens soweit das K betroffen wird. Ca wird auch hier in erster Linie durch einen kräftigen Transpirationsstrom verstärkt aufgenommen. Da K und Ca morphogenetisch sich verschieden verhalten, muß bei überwiegender Lichtwirkung eine mehr sukkulente Struktur, bei überwiegender Transpirationswirkung eine xeromorphere Struktur entstehen. Beide zusammen ergeben dann das typische Sonnenblatt unserer Bäume und Sträucher.

Es muß noch vermerkt werden, daß Freeland im Prinzip ähnliche Ergebnisse erzielt hat. Er hat unter anderem auch mit *Coleus* gearbeitet und erhielt nicht so extreme Verhältniszahlen für K : Ca. Es ist durchaus möglich, daß große Unterschiede zwischen den Pflanzenarten bestehen, worauf der oben mitgeteilte Versuch an *Gerste* ebenfalls hinweist.

Wir stellten einen weiteren Versuch mit ausdauernden Holzgewächsen an, wählten hierzu, wie in Tabelle 12, *Populus pyramidalis*, die sich dadurch auszeichnet, daß die Blätter nicht sehr auf Salzeinflüsse reagieren, da ihre Anlagen in der Winterknospe weitgehend determiniert und die Blätter überhaupt wenig plastisch sind. Der Versuch wurde ganz wie in Tabelle 12 angestellt. Je sechs bewurzelte gleichwertige Zweige kamen in Prianischnikow-Lösung von halber Konzentration; die Lösung wurde wöchentlich gewechselt, der Versuch begann vor der Knospenöffnung und dauerte 35 Tage. Die Starklichtzweige hatten den doppelten Lichtgenuß wie die Schwachlichtzweige, beide Portionen befanden sich unter Glocken bei hoher Luftfeuchtigkeit (95—100%) (Tabelle 15).

Tabelle 15. Salzaufnahme bei Zweigstecklingen von *Populus pyramidalis* unter dem Einfluß verschiedener Beleuchtung bei gleicher Luftfeuchtigkeit. (Versuchsdauer 35 Tage.)

	viel Licht	wenig Licht
Frischgewicht der Zweige bei Beginn in g...	50,6	51,2
Zahl der Blätter	284	295
Gesamttranspiration in g	233	202
Frischgewicht der Blätter in g	31,8	27,5
Trockengewicht der Blätter in g	6,29	4,78
Trockengewicht in % des Frischgewichtes ...	19,8	17,4
Gesamtasche in g	0,72	0,50
Asche in % des Frischgewichtes	2,26	1,82
Asche in % des Trockengewichtes	11,4	10,4
K in den Blättern in mg	126,3	94,5
K in ‰ des Frischgewichtes	3,95	3,43
K in ‰ des Trockengewichtes	19,9	19,7
K in % der Asche	17,4	18,9
Ca in den Blättern in mg	60,5	52,3
Ca in ‰ des Frischgewichtes	1,90	1,90
Ca in ‰ des Trockengewichtes	9,63	10,9
Ca in % der Asche	8,4	10,5
K : Ca = 100:	47,9	55,3

Die Blätter zeigten gegenüber Tabelle 12 eine gleichmäßigere Entwicklung. Sie waren in der Lichtkultur etwas größer an Fläche, aber sicherlich nicht dicker. Dementsprechend war auch das Frisch-

gewicht bei ihnen größer; das Trockengewicht war auch relativ zum Frischgewicht höher als bei den „Schattenzweigen". Die Lichtzweige führten in ihren Blättern absolut und relativ mehr Gesamtasche und mehr Kalium. Der Calziumwert lag absolut auch höher, aber nicht relativ, so daß in den Lichtblättern das K : Ca-Verhältnis sich zugunsten des K verschob im Gegensatz zu Tabelle 12, wo in den Zweigen mit starker Transpiration das Verhältnis sich zugunsten des Ca veränderte. Wir gewinnen aus diesen Versuchen erneut den Eindruck, daß Licht die K-Aufnahme fördert, aber nicht oder nicht so sehr die des Ca. Dagegen hat ein starker Transpirationsstrom in erster Linie einen Einfluß auf die Aufnahme des Ca. Die Kaliumaufnahme wird von anderen Faktoren beherrscht.

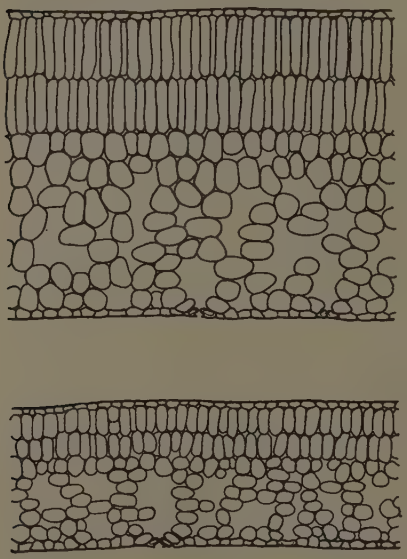


Fig. 13. *Hedera Helix;* Blattquerschnitte. Oben: Blatt eines bewurzelten Blattstecklings ($3^1/_2$ Jahre alt); unten: Blatt von der Pflanze, entspricht etwa dem oberen Blatt vor der Verwendung als Steckling (1 Jahr alt).

Auffällig ist, daß bei den unplastischen Blättern von *Populus* sich der K-Wert im Verhältnis zum Frischgewicht erhöht. Das Blatt gibt gegenüber der K-Zuwanderung in diesen starren Blättern nicht durch Wachstum entsprechend nach. Dagegen ist trotz der erhöhten K-Aufnahme der relative K-Gehalt gegenüber dem Trockengewicht ziemlich gleich. Die K-reichen Blätter bilden also mehr Trockensubstanz als die K-armen. So stehen auch hier die K-Werte in einem bestimmten Verhältnis zu den assimilatorischen Vorgängen. Schmidt hat in seinen Kurzversuchen Ähnliches gefunden. Wir möchten aber nicht annehmen, daß in diesen Ergebnissen ein Beweis der Anteilnahme des K an der Photosynthese zu sehen ist.

Zur Ergänzung teilen wir noch einen Versuch an Blattstecklingen von *Hedera Helix* mit. Efeublätter, mit dem Stiel in feuchte, etwas sandige Gartenerde gesteckt, bewurzeln sich schnell von der Schnittstelle des Stieles aus. Solche Blätter können sehr alt werden. Wir

Tabelle 16. Einjährige Blätter von *Hedera Helix* 3 Jahre als Blattstecklinge kultiviert, ohne Stiele und ohne Wurzeln analysiert.

	Kontrolle sofort	Versuchsblätter nach 3 Jahren
Fläche von 100 Blättern, cm^2	3720	3913
Frischgewicht von 100 Blättern, g	77,4	178,7
„ „ 1000 cm^2	20,8	45,6
Trockengewicht von 100 Blättern, g	20,2	50,8
„ „ 1000 cm^2	5,43	12,95
„ in % des Frischgewichtes	26,1	28,4
Asche von 100 Blättern, g	1,49	5,43
„ „ 1000 cm^2	0,40	1,39
„ in % des Frischgewichtes	1,94	3,04
„ in % des Trockengewichtes	7,38	10,7
K in 100 Blättern, g	0,124	0,296
„ auf 1000 cm^2	0,0334	0,0757
„ in ‰ des Frischgewichtes	1,60	1,65
„ in ‰ des Trockengewichtes	6,2	5,83
„ in % der Asche	8,3	5,43
Ca in 100 Blättern, g	0,421	2,192
„ „ 1000 cm^2	0,113	0,559
„ „ ‰ des Frischgewichtes	5,44	12,2
„ „ ‰ des Trockengewichtes	20,8	43,2
„ „ % der Asche	28,2	40,3
K : Ca = 100:	339	740
Interzellularvolumen %	18,5	14,3

haben sie in Halle 5 Jahre ohne jede Schwierigkeit am Leben erhalten, und in Königsberg sind zur Zeit $2^1/_2$jährige Stecklinge in Kultur, die aus bereits 1 Jahr alten Blättern gewonnen worden sind. Diese Blätter restituieren keine Sprosse, bilden aber ein im Verhältnis zur Blattmasse geradezu riesiges Wurzelsystem. Bei schwacher oder bei starker Transpiration, bei starker oder bei schwacher Beleuchtung wachsen diese Blätter. Sofern die Stecklinge aus jungen Blättern gewonnen worden sind, die sich schwerer bewurzeln, wachsen sie auch ein wenig in der Fläche. Alte Blätter wachsen jedoch nur in die Dicke (Fig. 13). Sie erreichten bei 5jähriger Kultur eine $3^1/_2$fache, bei $2^1/_2$jähriger Kultur eine doppelte Blattdicke. Sie reduzieren dabei ihr Interzellularvolumen (in Prozent zum Frischgewicht) erheblich (vgl. Nius, Schröder). Wenn man solche Blätter analysiert, zeigen sie eine enorme Steigerung des Aschengehaltes.

Auch relativ zum Frischgewicht steigt der Aschengehalt, so daß die Blätter mit Aschenstoffen überfüllt sind. So wird Calzium in erheblichen Mengen aufgenommen, jedoch relativ nicht so viel wie Aschenstoffe allgemein. In zwei Versuchen an verschiedenen Orten und mit verschiedenem Ausgangsmaterial war der Kaliumgehalt im Verhältnis zum Frischgewicht erstaunlich gleich. Wir schließen daraus erneut, daß Kaliummenge und Blattwachstum (bzw. Frischgewicht oder Trockengewicht) in einem kausalen Zusammenhang stehen. Davon ist beim Ca nichts zu merken. Die ohnehin Ca-reichen Efeublätter nehmen bei Stecklingskultur eine Unmenge Ca auf. Das etwa im Vergleich zum *Mais* oder zur *Pappel* außerordentlich günstige Ca-Verhältnis wird noch weiter verbessert (K : Ca = 100 : 740!).

Schlußbemerkungen.

Unsere Untersuchungen hatten das Ziel, den Mechanismus der Lichtwirkung bei der Ausbildung von Sonnen- und Schattenblättern aufzuhellen. Dabei nahmen wir an, daß bei der komplizierten Verknüpfung der Faktoren bei Stoffwechsel und Gestaltung eine einfache oder gar direkte Wirkung des Lichtes wenig wahrscheinlich ist, daß das Licht vielmehr auf verschiedenen Wegen seinen Einfluß geltend machen wird. Dafür sprach schon die Tatsache, daß die genannten Blattstrukturen keineswegs etwas Einheitliches sind, wie in der Einleitung betont. Es war deshalb auch unzweckmäßig, das Sonnenblattproblem in seiner ganzen Vielseitigkeit auf einmal anzugreifen, sondern wir beschäftigten uns zunächst mit jenen Strukturen, die wir in Blättern mit einem gewissen Sukkulenzgrad antreffen (pachymorphe Blätter), der nur bescheiden durch xeromorphe Merkmale überdeckt ist. Es war bereits früher darauf hingewiesen worden (Mothes 1932), daß die xeromorphen Merkmale nicht nur unter der Wirkung des Wassermangels, sondern auch des Stickstoffmangels und bestimmter Ionen entwickelt werden, und es war gezeigt worden, daß der sukkulente Anteil der Sonnenblattstrukturen wahrscheinlich in erster Linie durch eine erhöhte Salzaufnahme bedingt ist. Hier setzten unsere neuen Untersuchungen an.

Es blieb vor allem zu klären, ob durch den erwiesenen Einfluß des Lichtes auf die Transpiration auch eine Förderung der Salzaufnahme durch Starklicht erfolgt. Es mußte untersucht werden, in welchem Ausmaße die Transpiration die Salzaufnahme fördert und wieweit das Licht auch ohne indirekte Wirkung über die Wasserdurchströmung der Pflanze die Salzaufnahme beeinflußt. Es war vor allem zu entscheiden, ob die zur Sonnenblattstruktur führenden Wachstumsvorgänge primär vom

Licht bedingt erst sekundär eine vermehrte Salzeinströmung nach sich ziehen oder umgekehrt, ob es die erhöhten Salzkonzentrationen der Blattzellen selbst sind, die diese zu einem verstärkten Streckungswachstum und zur Teilung anregen.

Wir zielten darauf ab, dem Kurzversuch immer entsprechende Langversuche an die Seite zu stellen, um zu erkennen, ob ein zweifellos wirkungsfähiger Mechanismus auch Bedeutung gewinnt unter Verhältnissen, wie sie bei der natürlichen Ausbildung der Blätter herrschen. Dies war um so nötiger, als keineswegs ein allgemein-gültiges Reaktionsvermögen der Pflanzen zu erwarten war. Vielmehr sprach bereits die Tatsache, daß zahlreiche Pflanzen überhaupt keine charakteristischen anatomischen Unterschiede im Sinne der Sonnen- und Schattenblattstrukturen zu entwickeln vermögen, dafür, daß die genetische Konstitution eine ebenso wesentliche Rolle spielt wie die äußeren Faktoren, die in ihr ein Wirkfeld finden.

Die Analysen von typischen Sonnen- und Schattenblättern einheimischer Bäume zeigten, daß das Sonnenblatt bereits in der Knospe und dann durch die gesamte Entwicklung des Blattes bis zum Altern und herbstlichen Vergilben, auf Blattzahl (und auch Blattfläche) bezogen, ein höheres Frisch- und Trockengewicht und einen höheren Aschegehalt aufweist. Im Verhältnis zum Frisch- und Trockengewicht sind jedoch die Aschenwerte weniger verschieden. Es besteht eine gewisse Proportionalität zwischen Aschengehalt, Trockensubstanzbildung und Frischgewicht. Damit ist eine verstärkte Salzzufuhr zu den besonnten Blättern außer Zweifel gestellt. Die gegenteiligen Angaben in der Literatur (z. B. Leiningen) lassen sich ohne Schwierigkeiten auf den Gebrauch verschiedener Bezugsgrößen zurückführen. Daß eine gute Beleuchtung der Blätter eine verstärkte Transpiration nach sich zieht (vgl. Seybold 1929, Huber 1928, Hesselmann 1904, Dietrich 1925), kann heute als gesichert gelten. Wir haben deshalb nicht darauf hingearbeitet, neue Beweise dafür zu erbringen. Doch zeigen die Versuche (Tab. 13, 14, 15) an, daß selbst bei einigermaßen konstanter Luftfeuchtigkeit und diffuser Beleuchtung die Transpiration in gut belichteten Blättern höher ist als in schwach belichteten.

Es kam nun darauf an, den Einfluß der Transpiration auf die Salzaufnahme bei konstanten Lichtverhältnissen zu prüfen. In Kurz- und Langversuchen an *Mais*-, *Coleus*-, *Pappel*-Stecklingen konnte einwandfrei die stark fördernde Wirkung des Transpirationsstromes auf die Aufnahme von Aschenstoffen bewiesen

werden. Doch läuft die Salzaufnahme keineswegs proportional der Wasseraufnahme. Je stärker der Wasserstrom ist, desto weniger führt er relativ Salze mit sich. Bei geringer Transpiration ist demnach ihre Leistung am höchsten. Auch werden die untersuchten Kationen K und Ca nicht gleich betroffen. Ca verhält sich ausgesprochen passiv, wird leicht vom Wasserstrom mitgerissen und kann deshalb in bedeutenden Mengen angehäuft werden (Tab. 14, 15). K dagegen zeigt eine geringere Beeinflussung durch den Wasserstrom (Tab. 14). Bei starker Transpiration verschiebt sich das Verhältnis K : Ca zugunsten des Ca (Tab. 12, 14, 16).

Ganz besonders charakteristisch erscheint das Verhalten der Efeublattstecklinge während einer mehrjährigen Kultur (Tab. 16). Diese Blätter nehmen bei abgeschlossenem Flächenwachstum und andauerndem Dickenwachstum ganz enorme Mengen von Aschenstoffen auf. Jedoch bleiben die Kaliumwerte relativ zum Frischgewicht annähernd konstant. Die Calziumwerte erhöhen sich bedeutend.

Damit verschiebt sich auch das K : Ca-Verhältnis. Es bestehen keinerlei Anzeichen dafür, daß dieses verschiedene Verhalten von K und Ca im Aufnahmemechanismus selbst begründet ist. Vielmehr nehmen wir an, daß das im Überschuß aufgenommene Ca durch Unlöslichmachung (Oxalat usw.) die weitere Diffusion ermöglicht, im Gegensatz zum K, das durch eine leichtlösliche Bindung in der Zelle eine Überschwemmung verhindert.

Es muß hier aber betont werden, daß die Möglichkeit einer spezifischen Reaktion verschiedener Arten sehr nahe liegt. Bereits bei *Gerste* konnten wir unter unseren Versuchsbedingungen trotz starker Transpiration nur eine minimale Ca-Aufnahme beobachten. Und Freeland zeigt an verschiedensten Pflanzen, daß die Förderung der Salzaufnahme durch den Transpirationsstrom eine allgemeine Tatsache ist, daß aber bald das K, bald das Ca sich träger verhält. Hierin äußern sich wohl genetische Unterschiede. Der allgemeine Chemismus der Pflanzen wird eine erhebliche Rolle mitspielen; bereits die Nichtbildung von Calziumoxalat oder ähnlichen, schwer löslichen Ca-Verbindungen muß die übermäßige Ca-Aufnahme unmöglich machen. Gerade die wechselnden Verhältnisse bei verschiedenen Versuchspflanzen beweisen, daß wir keinen Grund haben, anzunehmen, daß zwischen der K- und der Ca-Aufnahme und ihrer Förderung durch den Wasserstrom grundsätzliche Unterschiede bestehen.

Auch Schmidt kommt durch kurzfristige Versuche am *Mais* zum Schluß, daß die Transpiration die Ionenaufnahme fördert; dabei folgt

Ca in fast linearer Abhängigkeit, während die K-Aufnahme einer Sättigungskurve gehorcht. Damit stimmen unsere Versuche gut überein. Da Schmidt auch eingehend die neuere Literatur bespricht, können wir mit Hinweis auf seine Arbeit darauf verzichten.

Nur auf die Veröffentlichung von Neubauer sei noch hingewiesen, der Sprosse von *Cydonia* und *Aristolochia* in verschieden feuchter Luft kultivierte und den Einfluß der Trockenheit auf eine Erhöhung des Aschenwertes wie auch auf eine Förderung der Sonnenblatteigenschaften feststellen konnte.

Jedenfalls ist durch die Arbeiten von Freeland, Schmidt und unsere Untersuchungen die Auffassung von Muenscher, Hasselbring, Gracanin u. a., die Transpiration beeinflusse die Salzaufnahme nicht, widerlegt.

Daß das Licht die Salzaufnahme über eine Transpirationssteigerung fördert, schließt nicht aus, daß auch ohne Transpiration auf einem anderen Wege eine solche Förderung durch Licht erreichbar ist.

Für *Mais* (Tab. 13) trifft dies wohl ohne Zweifel zu. Bei fast völlig abgestoppter oder wenigstens verringerter Transpiration ist die K-Aufnahme entscheidend durch das Licht beschleunigt, während die Ca-Aufnahme fast unterbunden ist. Bei *Coleus* (Tab. 2, 14) gelang es nicht, beim Starklicht- und Schwachlichtmaterial eine gleiche Transpiration zu erzielen. Trotzdem sind wir geneigt, die bedeutende Steigerung der K-Aufnahme in den Starklichtpflanzen in erster Linie auf das Licht zurückzuführen. Auch hier zeigt sich unter dem Einfluß einer guten Beleuchtung eine Verschiebung des K : Ca-Verhältnisses zugunsten des K. Endlich wurde auch bei *Pappel*-Stecklingen eine größere Aschenstoffzufuhr zum Blatt bei guter Belichtung ermittelt, wobei K ebenfalls das Ca übertraf (Tab. 15).

Aus diesen Versuchen geht unseres Erachtens klar hervor, daß das Licht auch ohne Transpirationssteigerung die Aufnahme der Aschenstoffe zu fördern vermag, wobei das Kalium viel stärker betroffen wird als das Ca.

Wie ist diese Lichtwirkung zu erklären. Es liegt nahe anzunehmen, daß primär eine Bildung von Assimilaten, eine Zunahme der Trockensubstanz und dadurch einsetzendes Wachstum das K-Bedürfnis der Organe erhöht. Daß diese Möglichkeit nicht ausreicht zur Erklärung der beobachteten Erscheinungen, ergibt sich aus folgendem: Die Blätter der gut belichteten *Pappel*-Zweige (Tab. 15) zeigen eine nur geringe Zunahme des Frischgewichtes, wie überhaupt diese Species auch unter natürlichen Bedingungen keine auffälligen Strukturunterschiede zwischen Sonnen- und Schattenblättern aufweist. Dennoch ist die K-Aufnahme bei

guter Beleuchtung relativ zur Frischgewichtszunahme wesentlich größer. Ebenso steigt bei *Coleus* der Kaliumwert relativ zum Frischgewicht.

Ohne daß wir die Möglichkeit, daß eine primär erfolgende Wachstumsanregung sekundär Salze in das Blatt zieht, völlig übersehen wollen (vgl. Steward, Prat), können wir ihr keine entscheidende Bedeutung zur Erklärung unserer Ergebnisse zusprechen. Das lehren uns auch die Versuche an submersen Wasserpflanzen, deren Blätter überhaupt nicht auf Starklicht ansprechen, obwohl sie doch modifizierbar sind, wie der Versalzungsversuch ergibt. Wäre das primär geförderte Wachstum entscheidend für die Salzaufnahme, so müßten wir einen Lichteffekt selbst bei submersen Blättern erwarten.

Wir müssen also nach anderen Ursachen der Lichtwirkung suchen. In der Literatur spielen bei der Deutung ähnlicher Erscheinungen Hinweise auf Permeabilitätssteigerungen durch das Licht eine besondere Rolle. Ganz abgesehen davon, daß die gesamte Permeabilitätsliteratur darunter leidet, daß der Begriff Permeabilität bald für ein wirkliches Durchdringen durch den Protoplasten, bald für ein Eindringen in ihn gebraucht wird (vgl. Höfler), sprechen die in Kürze von Luttkus und Bötticher zu veröffentlichenden Ergebnisse gegen eine solche Erklärung; diese fanden, daß *Mais*-Pflanzen nach 24stündiger Verdunkelung erhebliche Mengen von Kalium, aber auch Ca und Phosphorsäure durch die Wurzeln an ihr Medium abgaben. Diese Stoffe entstammten nicht der Wurzel, sondern dem Sproß. Die Pflanzen waren auch keineswegs geschädigt, sondern zeigten bei Wiederbelichtung sofort erneut K-Aufnahme aus derselben Lösung, in die sie eben ausgeschieden hatten. Wäre die Permeabilität das entscheidende, müßte auch diese Ausscheidung in das Medium im Dunkeln ebenso wie die bevorzugte Aufnahme im Starklicht auf ihre Erhöhung zurückgeführt werden, ein recht unwahrscheinlicher Zusammenhang. Vielmehr nehmen wir an, daß die verstärkte Aufnahme im Starklicht durch eine festere Bindung des K im Protoplasten bedingt ist. Im Dunkeln lockert sich diese Bindung, die gesamte K-Menge gehorcht dann den Diffusionsgesetzen und bewegt sich entsprechend dem Konzentrationsgefälle. Wenn wir auch das Gesamtkalium aus dem Gewebe leicht auswaschen können, schließt das nicht aus, daß in der gesunden Pflanze adsorptive Bindungen wirksam werden, die das Kalium festhalten und aus dem Diffusionsgefälle reißen. Es ist vorerst nicht bewiesen, daß es sich dabei um eine Bindung des K im photosynthetischen Apparat selbst handelt, und es muß auch offen bleiben, ob die CO_2-Konzentration von entscheidendem Einfluß auf dieses Verhalten der K-Ionen ist.

Unsere Untersuchungen bestätigen die zum Teil mit anderen Methoden (kurzfristige Versuche) gewonnenen Ergebnisse von O. Schmidt (dort auch weitere Literatur) in wichtigen Punkten. Schmidt fand beim *Mais* unter konstanten Bedingungen für den Wasserumsatz durch das Licht eine eindeutige Förderung der Aufnahme von K und Mg; diese Ionen zeigten eine Sättigungskurve im Gegensatz zu Ca, PO_4, NO_3, die einer Minimumkurve folgten. Bei bestimmten Lichtintensitäten konnte sogar eine Ausscheidung von Ca und PO_4 beobachtet werden. Auch muß auf die neueren Untersuchungen von C. J. Ingold hingewiesen werden, der bei *Elodea* eine positive Lichtwirkung auf die K- und Cl-Aufnahme feststellen konnte.

Uns erscheint wichtig, daß unsere langfristigen Versuche, bei denen die Pflanzen in ausgeglichenen Salzlösungen unter wesentlich günstigeren und natürlicheren Bedingungen sich befanden, prinzipiell ähnliche Ergebnisse gebracht haben. Damit ist der Lichteinfluß auf die Salzaufnahme unabhängig von der Transpirationswirkung sichergestellt.

Da wir nun im Salzungsversuch ähnliche strukturelle Veränderungen erreichen konnten wie durch Starklicht und durch hohe Transpirationsraten, schließen wir, daß der wichtigste und charakteristische Anteil der Sonnenblattstrukturen durch eine erhöhte Salzeinströmung bedingt ist, die ihrerseits entscheidend durch die Transpiration selbst und durch das Licht (auch unter Ausschluß der Transpiration) gefördert wird.

So extrem verschieden sich der K- und Ca-Anteil der Gesamtasche unter natürlichen Verhältnissen wie auch im Experiment verhalten, so wenig können wir auf Grund der hier gewonnenen Zahlen dem K:Ca-Verhältnis eine bestimmte morphogenetische Rolle zuschreiben. Wohl haben unsere früheren Versuche (Mothes 1932) wie auch die von Kisser, Schneider gezeigt, daß K und Ca die Blattstruktur sehr verschieden beeinflussen. Aber zu einer sorgfältigen quantitativen Behandlung des Problems ist unerläßlich, nicht die aufgenommene Menge Ca allein zu kennen, sondern die Konzentration des echt gelösten, ionogen gebundenen Ca. Nur dieses wird entscheidend mit dem K konkurrieren und eine spezifische morphogenetische Rolle spielen. Hier müssen weitere Untersuchungen ansetzen.

Der relativ hohe K-Gehalt in ganz jungen Ahornblättern (Tab. 6), der sogar den an Ca übertrifft, verdient jedenfalls beachtet zu werden. Man darf nicht aus dem Auge verlieren, daß die entscheidende Prägung des Blattes bereits in der Knospe geschieht. Viel wichtiger als die

Ionenverteilung im sommerlichen und herbstlichen Blatt ist die Ionenverteilung in der jungen Knospe. Wir haben darüber keine speziellen Untersuchungen angestellt. Aber die starke sommerliche Auswanderung des Kaliums aus Sonnenblättern (Fig. 9, 10) legt die Vermutung nahe, daß in den jungen Knospen der Sonnenzweige die K-Konzentration besonders hoch ist. Jedenfalls darf auch die spezifische Verteilung von Ca und K innerhalb eines Blattes (Warne) nicht ohne weiteres in einen Zusammenhang mit der Verteilung der Sonnenblattstruktur im gleichen Blatt gebracht werden (vgl. Paulmann, Schimper). Dennoch ist auffällig, daß die Spitzenteile eines Blattes stärkeren Sonnenblattcharakter haben und gleichzeitig besonders reich an Calziumoxalat sind.

Es ist selbstverständlich und oben schon betont worden, daß neben den hier klarer erfaßten Mechanismen noch andere bedeutungsvoll bei der Ausbildung der Blattstrukturen mitwirken. So die Leitfähigkeit der Zweige mit ihrer komplizierten entwicklungsphysiologischen Verankerung (vgl. Huber), vor allem aber auch die Wuchsstoffe und die durch sie verursachten komplizierten Korrelationen innerhalb einer Baumkrone (vgl. Jost, Mogk, Münch, Söding, Stålfelt).

Literatur.

Arens, K., Jahrb. f. wiss. Bot. **80,** 248 (1934). — Brenner, W., Flora **87** (1900). — Dietrich, Jahrb. f. wiss. Bot. **65,** 1 (1925). — Engler, A., Mitt. d. Schweiz. Zentralanstalt f. d. forstl. Versuchsw. **10** (1911). — Freeland, R. O., Americ. Journ. of Bot. **23,** 355 (1936); **24,** 373 (1937). — Frey-Wyßling, A., Die Stoffausscheidung. Berlin 1935. — Germar, Br., Zur Frage der Kieselsäurewirkung in Pflanzen. Diss. Bonn 1933. — Glück, H., Wasser- und Sumpfgewächse. 4. Teil. Jena 1924, — Goebel, K., Pflanzenbiol. Schilderungen **2,** 243, 239, Marburg 1893. — Gracanin, M., Compt. rend. Acad. Paris **195,** 899, 1311 (1932). — Hasselbring, H., Botan. Gaz. **57,** 72 1914. — Hesselmann, H., Beih. z. Botan. Zentralbl. **17** (1904). — Huber, B., Zeitschr. f. Bot. **15** (1923); Jahrb. f. wiss. Bot. **64** (1925); **67** (1928); Planta **2** (1926). — Ingold, C. J., New Phytolog. **35,** 132 (1936). — Jost, L., Vorlesungen über Pflanzenphysiol. Jena 1913. — Ders., Ber. d. D. Bot. Ges., **12,** 188 (1894). — Kisser, J., Planta **3,** 562, 578 (1927). — Kostytschew, S., Lehrbuch der Pflanzenphysiologie II. Berlin 1931. — Kreyzi, R., Zeitschr. f. Pflanzenernährung **25** (1932). — Küster, E., Pathol. Pflanzenanatomie. Jena 1925. — Lundegårdh, H., Die Nährstoffaufnahme der Pflanze (1932). — Ders., Klima und Boden (1930). — Luttkus, K., und Bötticher, R., Planta 1939 (im Druck). — Mogk, W., Arch. f. Entwicklungsmech. **38,** 584 (1914). — Muenscher, W., Americ. Journ. of Bot. **9,** 311 (1922). — Münch, E., Jahrb. f. wiss. Bot. **86,** 581 (1938). — Neubauer, H. Fr., Biolog. Zentralbl. **57,** 82 (1937). — Nius, Fr., Jahrb. f. wiss. Bot. **74,** 33 (1931). — Nordhausen, M., Ber. d. D. Bot. Ges. **21,** 10 (1903); **30** (1912). — Paulmann, R., Flora **107,** 227 (1915). — Prat, S., Bioch. Zeitschr. **136,** 366 (1923). — Ramann, E., Landw. Vers.Stat. **76** (1912). — Schmidt, O., Zeitschr. f. Bot. **30,** 289 (1936). — Schneider, R., Flora **30,** 131 (1936). — Schröder, Joh., Beitr. z. Biol. d. Pflanzen **25,** 75 (1937). — Seybold, A., Die physik. Komponente d. pfl. Transpiration. Berlin 1929. — Söding, H., Ber. d. D. Bot. Ges. **52,** 110 (1934). — Stahl, E., Bot. Ztg. **52,** 117 (1894). — Stålfelt, M. G., Svenska Skogsvårdsför. Tidskrift 1931. — Steiner, M., Jahrb. f. wiss. Bot. **81,** 94 (1935). — Steward, F. C., Ann. Rev. of Bioch. **4,** 519 (1935). — Warne, L., Ann. of Bot. **48,** 57 (1934).

Weitere Untersuchungen über Druckholz und Zugholz.

Von Ernst Münch.

Mit 11 Abbildungen im Text.

Mein Befund[1]), daß geotropische Aufrichtung verholzter Sprosse beim Nadelholz durch Verlängerung des neugebildeten Holzes auf der Unterseite, bei den Laubhölzern aber durch Verkürzung desselben auf der Oberseite des schief stehenden Sprosses bewirkt wird, gründet sich auf dem Nachweis der Spannungen, die in solchen Sprossen bestehen und zu Längenänderungen führen, wenn die Widerstände gegen diese Längenänderungen durch Zersägen oder Einkerben beseitigt werden.

Wenn auch schon die bisherigen Versuche keine andere Deutung zuließen, waren weitere Untersuchungen über den eigentümlichen Krümmungsmechanismus, besonders über das unterschiedliche Verhalten von Laubholz und Nadelholz, doch erwünscht. Ich habe deshalb die im ersten Abschnitt folgenden weiteren Versuche angestellt. Außerdem war der Vorgang der Streckung der Druckholzfasern, den ich bisher nur hypothetisch behandeln konnte, auch mikroskopisch aufzuklären. Untersuchungen darüber sind im zweiten Teil mitgeteilt.

1. Physiologische Versuche.

Stämme verschiedener Baumarten von $^1/_2$—7 m Höhe wurden im Frühjahr vor Vegetationsbeginn schief gestellt. Die darauf erfolgende geotropische Aufrichtung des orthotropen Stammes beginnt bei den Bäumen an den neuen, noch krautigen Längstrieben, die sofort die senkrechte Richtung einschlagen und in wenigen Tagen erreichen. Die Aufrichtung greift dann auch auf die tieferen, schon verholzten Teile über; die Krümmung schreitet hier aber nur langsam nach unten fort, weil der starre Holzkörper der Aufkrümmung einen starken Wider-

1) Diese Zeitschrift **132,** 1938, 357.

'stand entgegensetzt. Immerhin wurde es bei wüchsigen Fichten, Douglastannen und Kiefern mehrmals erreicht, daß nach dem ersten Sommer schon eine Stammstrecke von 1—2 m mit 3—4 Internodien deutlich aufgekrümmt war.

Die weitere Behandlung der Versuchsbäume bestand darin, daß ich an den schiefgestellten Stämmen entweder die Oberseite oder die Unterseite durch Abschälen von Rinde und Kambium entblößte, so daß hier kein neues Holz gebildet werden konnte. Die Wunden wurden mit einer Mischung von Vaseline und Lanolin gegen Austrocknung und Pilzinfektion geschützt, was sich sehr bewährte.

Fig. 1. Stamm von *Pinus peuce*, im Frühjahr schief gestellt und am vorjährigen Jahrestrieb unterseits, am zweijährigen oberseits und am dreijährigen wieder unterseits geschält, worauf sich nur der zweijährige Jahrestrieb aufgekrümmt hat.

Die erwarteten Unterschiede zwischen Laubhölzern und Nadelhölzern im Mechanismus der geotropischen Aufrichtung traten bald hervor und waren nach Abschluß der Vegetation im Herbst sehr deutlich.

a) Nadelhölzer.

In Fig. 1 ist der Stamm (*Pinus peuce*) am obersten Jahrestrieb auf der Unterseite, am zweiten auf der Oberseite und am dritten wieder auf der Unterseite geschält. Nur der oberseits geschälte Stammteil hat eine Aufkrümmung ausgeführt, und zwar bis zu einem Winkel von 36°, was für einen verholzten Sproß von dieser Stärke eine ungemein starke Krümmung in einem Jahr bedeutet. Dagegen ist an den unterseits geschälten Stellen jede Krümmung ausgeblieben, auch am obersten Jahrestrieb, der ohne solche Behandlung am ehesten und stärksten reagiert hätte.

In einigen Fällen bog sich der unterseits geschälte oberste Jahrestrieb sogar etwas abwärts (Fig. 2), wahrscheinlich aber nur infolge Lastkrümmung, weil er infolge der einseitigen Schälung nicht genug Holz bilden konnte.

Die Aufkrümmung oberseits geschälter Nadelholzsprosse war besonders kräftig, wenn außer der Rinde und dem Kambium auch ein Teil des Holzkörpers weggeschnitzt worden war, so daß der Widerstand des vorhandenen Holzkörpers gegen die Verbiegung verringert war. Darauf ist es zurückzuführen, daß in dem Falle Fig. 1 die Aufbiegung des oberseits geschälten Stammteiles so stark ist, während sich die ungeschälte unterste Strecke überhaupt noch nicht gekrümmt hat.

Fig. 2. Stamm von *Pseudotsuga Douglasii*, vorjähriger Jahrestrieb unterseits, zweijähriger oberseits geschält, nur der letztere aufgekrümmt.

Wenn der apikale Teil eines schiefgestellten Nadelholzstammes durch fortgesetzte Aufrichtung des basalen Teiles in Überkrümmung kommt, d. h. über die senkrechte Lage hinausgeschoben wird, so beginnt er bald mit einer gegenläufigen Krümmungsbewegung, indem die nunmehr auf die Unterseite geratene Stammseite Druckholz ausbildet und sich verlängert. Der Stamm erreicht auf diese Weise unter Schlangenbewegungen die senkrechte Stellung. Bei oberseits geschälten Stämmen ist das nicht möglich, weil auf der geschälten Seite die Möglichkeit der Druckholzbildung fehlt, wenn diese Seite durch die Überkrümmung nach unten zu liegen kommt. Die Überkrümmung wird deshalb nicht ausgeglichen, wie in mehreren Fällen von *Pinus peuce*

zu sehen war. Die Folge ist, daß die oberseits geschälten Nadelholzstämme schließlich viel stärker gekrümmt sind als unbehandelte bei der gleichen Schrägstellung, und dauernd übergekrümmt bleiben.

Der Versuch verlief grundsätzlich ganz gleich bei *Pinus peuce*, *Picea excelsa* und *Pseudotsuga Douglasii* (Fig. 2).

Ganz gleiche Ergebnisse hatten Versuche mit Ästen von Nadelhölzern. Im Frühjahr wurden 3 m lange Stämme von *Pinus peuce* im dritten Jahrestrieb geringelt, so daß die Äste des nächst unteren Quirls zur geotropischen Aufrichtung angeregt waren. Diese Äste wurden zugleich in der Weise behandelt, daß die Rinde, das Kambium und eine dünne Holzschicht bei einigen Ästen auf der Astoberseite, bei anderen dagegen auf der Astunterseite durch Abschälen beseitigt wurden. Einige Äste blieben unbehandelt. Als weitere Kontrolle diente ein ähnlicher Baum, der in gleicher Weise am Stamm geringelt wurde, an den Ästen aber unbehandelt blieb.

Fig. 3. *Pinus peuce*, Stamm geringelt, Äste 1 und 3 oberseits, Ast 4 unterseits geschält, Ast 2 unbehandelt. Starke Aufkrümmung bei 1 und 3, schwache Aufkrümmung bei 2. Ast 4 ohne Krümmung.

Bis zum Herbst hatten sich die unbehandelten Kontrolläste (Fig. 3, Ast 2) ein wenig, zum Teil so weit aufgerichtet, daß der drittunterste Jahrestrieb senkrecht stand. Viel stärker war die Aufrichtung an den oberseits geschälten Ästen (Fig. 3, Ast 1 und 3). Sie hatten sich am untersten Jahrestrieb so stark gekrümmt, daß sich am zweituntersten eine Überkrümmung von 10° und 30° über die Vertikale hinaus ergab. Die oberen Teile der zweituntersten Jahrestriebe hatten dabei einen Winkel von 50—100° durchlaufen. Dagegen blieb die Stellung der unterseits geschälten Äste (Ast 4

in Fig. 3, ein weiterer ist im Bilde durch den Stamm verdeckt) völlig unverändert.

Die Unterschiede im Maße der Aufrichtung wurden auch durch die folgende Einrichtung vor Augen geführt. Zwischen jedem Ast und dem Stamm wurde eine Schnur gespannt. Wenn keine Aufrichtung erfolgte, blieb diese Schnur straff (Fig. 3, Ast 4); wenn sich der Zweig aufbog, wurde sie schlaff (Fig. 3, Ast 1). Auf die Wiedergabe der Winkelmessungen vor und nach dem Versuch muß ich verzichten, weil die Aufrichtung in den einzelnen Jahrestrieben der Äste ungleichmäßig erfolgte, so daß die bloßen Winkelangaben kein richtiges Bild ergeben würden.

Bei weiteren Versuchen mit *Pinus peuce*, *Picea excelsa* und *Pseudotsuga* wurde nicht die Oberseite oder die Unterseite, sondern die rechte oder die linke Flanke des schiefgestellten Stammes geschält, wobei auch die äußeren Schichten des bloßgelegten Holzes weggeschnitzt wurden. Infolgedessen konnte sich Druckholz auf der Unterseite nur einseitig ausbilden. Aus dem Verlängerungsdruck desselben und dem Widerstand des schon vorhandenen Holzes ergab sich eine Druckkomponente mit horizontaler Richtung und eine Krümmung nach rechts oder links in der Richtung zur geschälten Seite. Wurde diese Schälung an den aufeinanderfolgenden Internodien abwechselnd rechts und links ausgeführt, so entstand im Laufe des Sommers ein geschlängelter Wuchs des Stammes. Diese Krümmungen waren aber erwartungsgemäß nur schwach, meist kaum merklich.

b) Laubhölzer.

Schwieriger waren die Versuche mit Laubhölzern, weil diese weniger scharf geotropisch reagieren als die Nadelhölzer. Eine Aufrichtung erfolgt bei Laubhölzern überhaupt nur bei mäßiger Schiefstellung und dann natürlich nur mit flacher Krümmung. Wenigstens ist es so bei größeren, über etwa manneshohen Stämmen; jüngere Pflanzen reagieren lebhafter. Wird der Stamm über ein gewisses Maß hinaus niedergebogen oder ganz umgelegt, so richtet er sich meistens überhaupt nicht auf, vielmehr stellt er sein Längenwachstum und großenteils auch sein Dickenwachstum ein und bildet einen der Äste zum Ersatzstamm aus[1]), oder es entstehen auf der Oberseite des umgelegten Stammes Proventivsprosse, die die Führung übernehmen. Eine Auf-

1) Bei Nadelhölzern kommt eine Umbildung von Ästen zu Ersatzstämmen nach Umlegen des Hauptstammes zwar auch vor, doch bleibt die Aufkrümmung des Stammes wenigstens im oberen Teil auch dann nicht aus.

richtung des Wipfels zur Senkrechten erfolgt nur dann, wenn die Spitze des schiefgestellten Stammes nicht tiefer zu stehen kommt als die Spitze eines der Äste. Das Sinusgesetz gilt also für Laubholzstämme, wenn überhaupt, höchstens in ganz engem Bereich bei kleinen Neigungswinkeln. Deshalb gelangen nur Versuche mit Pappeln, Roßkastanien, Salweiden und Eschen, die in einem mäßigen Winkel von etwa 30° gebogen wurden. Sie wurden teils oberseits, teils unterseits geschält, teils als Kontrollen nicht weiter behandelt.

Fig. 4. Von den beiden gekreuzten Pappelstämmen hat sich der nach links geneigte, der auf der linken (unteren) Seite geschält ist, stärker aufgekrümmt als der andere, ungeschälte.

Bei einem solchen Versuch mit 2jährigen, 2—3 m hohen Pappeln (Stecklingspflanzen von *Populus berolinensis*), der am 27. Juli begonnen wurde, richteten sich die Stämme bis zum Herbst noch sehr deutlich auf, auch wenn sie auf der Unterseite geschält waren. Der in Fig. 4 nach links geneigte Stamm ist auf der ganzen Strecke, die sich gekrümmt hat, auf der Unterseite entrindet, wobei auch eine dünne Lage Holz weggeschnitzt ist. Auch hier ergab sich, daß die Krümmung stärker ausfiel und die Krümmung der unbehandelten Kontrollen übertraf, wenn beim Schälen der Unterseite zugleich eine Schicht des Holzes beseitigt wurde (Fig. 4). Auch hier ist innerhalb der geschälten Stammstrecke die Gegenkrümmung nach der Überkrümmung ausgeblieben. Infolge der Beseitigung des Kambiums konnte sich kein Zugholz ausbilden, nachdem der apikale Teil der geschälten Strecke infolge der Überkrümmung auf die Oberseite geraten war.

Wenn dagegen der Stamm nur auf der oberen Seite geschält wurde, unterblieb auf der so behandelten Strecke jede Aufkrümmung, während die nichtgeschälten Stammteile die erwarteten Krümmungen höchstens im gleichen Maße wie die unterseits geschälten, zum Teil aber deutlich schwächer, ausführten.

Nur in einem Fall, an der verholzten Basis eines noch dünnen Gipfeltriebes des laufenden Jahres, trat auch bei einem oberseits geschälten Pappelstamm eine schwache Aufkrümmung auf. Dieser Fall klärte sich in folgender Weise auf. Die Schälung hatte sich hier auf die Beseitigung der Rinde und des Kambiums beschränkt, während der Holzkörper unversehrt blieb. Das noch unfertige Jungholz, das im gleichen Sommer schon gebildet war, konnte sich dann unter dem Schutz des Anstriches noch in Zugholz umbilden. Wie die mikroskopische Untersuchung nach Abschluß des Versuches ergab, bestand das bloßgelegte Holz der Oberseite zum größten Teil aus ausgeprägten Zugholzfasern mit ungemein stark ausgebildeter tertiärer Wandschicht. Diese Zugholzschicht war, wie ich annehme, stark genug, um durch ihre Kontraktion den an der geschälten Stelle dünn gebliebenen Zweig krumm zu biegen. Wenn diese Annahme zutrifft, liegt damit ein Beweis dafür vor, daß die Verkürzung der Zugseite des Sprosses nicht vom embryonalen Kambium, sondern von den Zugfasern während der Ausbildung und Verdickung ihrer Wandschichten erfolgt. Der Versuch soll deshalb wiederholt werden.

An den unterseits entrindeten Laubholzstämmen bildete sich nach der Schrägstellung aus dem oberseitigen Kambium eine starke Lage von Zugholz (Weißholz) ebenso wie an unbehandelten Stämmen, während die oberseits geschälten Laubholzstämme auf der Unterseite ihr Dickenwachstum ebenso herabsetzten wie die ungeschälten. Dementsprechend, nur gerade umgekehrt, verhielten sich die Nadelhölzer. Bei oberseitiger Schälung entstand bei diesen auf der Unterseite wie bei ungeschälten Stämmen nach der Schiefstellung ein sehr stark verbreiterter Jahresring von Druckholz (Rotholz), bei unterseitiger Schälung blieb der Jahresring auf der Oberseite ebenso schmal wie ohne Schälung. (In extremen Fällen unterbleibt bekanntlich auf der Sproßseite, die dem Reaktionsholz gegenüberliegt, das Dickenwachstum vollständig.)

Mein früheres Ergebnis ist damit auf ganz anderem Weg abermals bewiesen: Geotropische Aufrichtungen geschehen durch Längenänderungen des während der Reizung neugebildeten Reaktionsholzes, bei Nadelhölzern durch Verlängerung und Längsdruck des unterseitigen Rotholzes, bei Laubhölzern durch Verkürzung und Längszug des oberseitigen Weißholzes. Der schmale Zuwachs der Stammseite, die dem Reaktionsholz gegenüberliegt, und beim Nadelholz als Weißholz mit stark abweichendem Faserbau differenziert, beim Laubholz aber nicht wesentlich vom gewöhnlichen Holz verschieden ist, ist nicht oder

wenigstens nicht in nachweisbarem Maße aktiv an der Aufkrümmung beteiligt. Das fertige, schon vor der Reizung vorhandene Holz wirkt nur als Hindernis gegen die Sproßkrümmung.

Bei meinen zahlreichen Versuchen dieser und ähnlicher Art ergab sich noch eine weitere Beobachtung, die Erwähnung verdient. In allen Fällen, in denen ein Baum, sei es Laubholz oder Nadelholz, vor Vegetationsbeginn schief gestellt oder ganz umgelegt und in dieser Richtung den Sommer über gehalten wurde, blieb der Längenwuchs der Gipfeltriebe, in geringerem Maße auch der weiter unten ansetzenden Seitentriebe, ungewöhnlich kurz. Die Gipfeltriebe wüchsiger Fichten, die ohne Eingriff 60—80 cm lang geworden wären, blieben nach der Schiefstellung meist nur fingerlang. In mäßigem Grade ist das Kurzbleiben der Gipfeltriebe auch in Fig. 1 und 2 zu sehen. Bei Laubhölzern war die Verkürzung der Spitzentriebe ebenso auffallend. Bei stark, unter etwa 45° schief gestellten Pappeln war überhaupt ein allgemeines Nachlassen des Wachstums am ganzen Baum zu beobachten. Sie blieben hinter unbehandelten Nachbarbäumen bedeutend in der Länge und zum Teil auch in der Blattgröße zurück. Es handelt sich um die gleiche Erscheinung, die in der Spaliergärtnerei benutzt wird um durch Schief- oder Querstellung das vegetative Wachstum zu unterdrücken. Ich nehme an, daß diese Beeinträchtigung darauf beruht, daß das Kambium des Stammes zur Ausbildung der ungemein breiten Ringe von schwerem, substanzreichen Druck- oder Zugholz soviel Bildungsstoffe vorwegnimmt, daß für die Längstriebe zu wenig übrig bleibt. Die Ursache dürfte in der Verlagerung des Wuchsstoffes infolge der geotropischen Reizung zu suchen sein.

2. Zur Mikroskopie des Druckholzes der Nadelhölzer.

Nach meiner Annahme (1938, S. 387) kommt der nachhaltige Längsdruck des Druckholzes, der schließlich zur Sproßkrümmung führt, dadurch zustande, „daß die Druckholzfasern bei ihrer Entstehung aus dem Kambium zu einer solchen Länge anwachsen, daß sie in dem verfügbaren Raum nur gestaucht und gepreßt Platz haben“, und daß sie auch nicht in der Lage sind, sich dadurch beliebig zu verlängern, daß sie sich durch gleitendes Wachstum zwischeneinander schieben. Diese Annahmen kann ich jetzt auch mikroskopisch belegen.

Spaltet man das Druckholz (Rotholz) irgendeines Nadelholzes auf, so fällt schon bei Betrachtung mit bloßem Auge oder mit der Lupe auf, daß die Fasern nicht wie beim gewöhnlichen Holz oder beim Weißholz geradlinig parallel, sondern gekrümmt und gewunden liegen. Die Krümmungen verlaufen sowohl in der Radial- wie in der Tangentialebene (Fig. 9). Schwächere Krümmungen dieser Art scheinen sich in mikroskopischen Dünnschnitten bald ziemlich auszugleichen. Zum Teil aber sind sie so stark, daß sie großenteils auch in Dauerpräparaten erhalten bleiben und gut abgebildet werden können. Die mikrophoto-

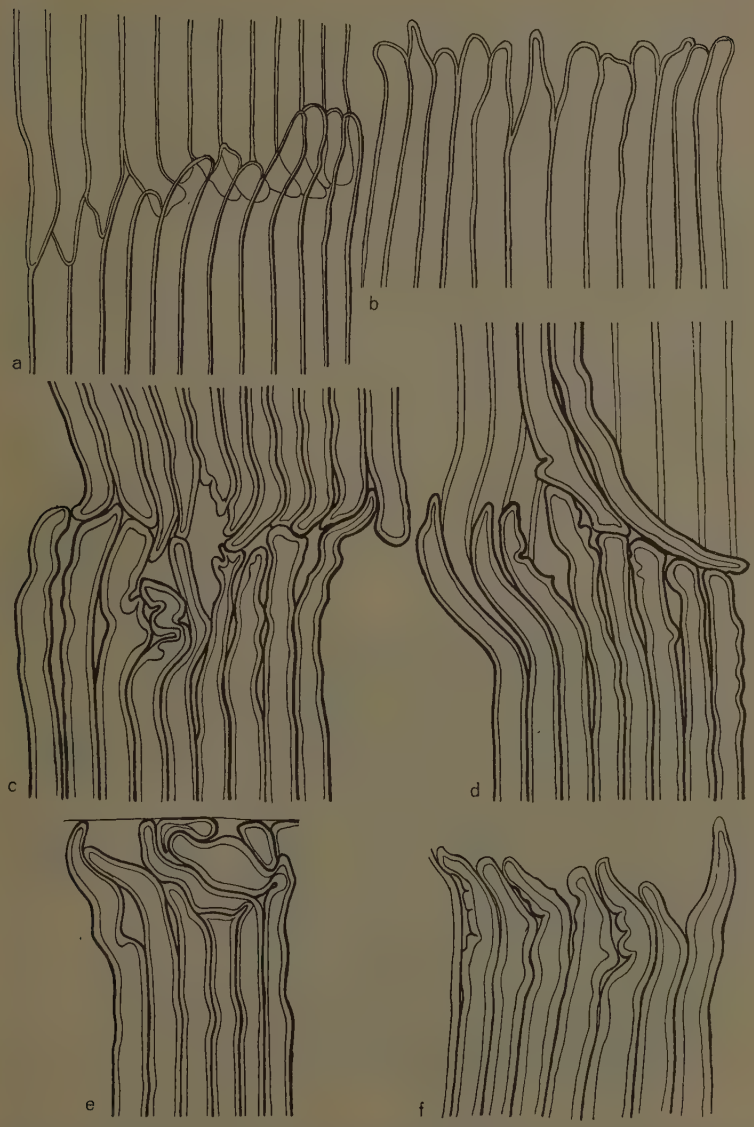


Fig. 5. Tracheidenenden im Radialschnitt, a, b Normalholz, c bis f Druckholz (Rotholz). a bis e *Pinus peuce*, f *Picea excelsa*. Knickung, Stauchung und Krümmung der Rotholztracheiden.

graphische Wiedergabe ist allerdings ziemlich schwierig, weil die Krümmungen meist nicht alle in der Schnittebene verlaufen. Deshalb wurde bei der Abbildung der Krümmungen die zeichnerische Darstellung bevorzugt (Fig. 5—8).

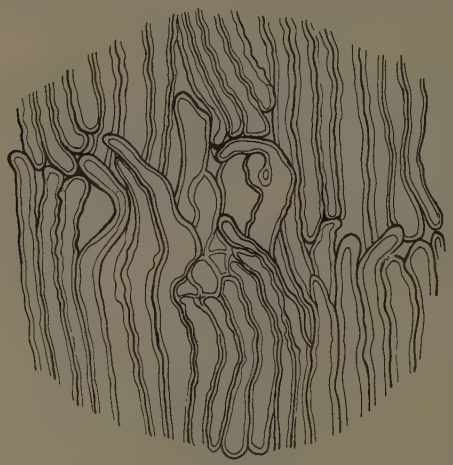


Fig. 6. Verwickelte Stauchungs- und Krümmungsformen im Druckholz von *Pinus peuce*, Radialschnitt.

Besonders stark weichen die Enden der Holzfasern von der geraden Richtung ab. Sie sind oft stark im Bogen oder krückstockartig, besonders in der Radialrichtung, zur Seite gedrängt (Fig. 5d, 10), oft förmlich geknickt, gestaucht, verbeult und eingedellt (Fig. 5, 6), manchmal auch örtlich aufgebläht oder verengt (Fig 5e, 8). Unverkennbar sind diese Formen Folgen des vergeblichen Bemühens der Holzzellen, gegen den Widerstand des schon vorhandenen Holzes in die Länge zu wachsen, wobei einzelne Fasern und Fasergruppen eine solche Verlängerung erfahren, daß durch den von ihnen ausgeübten Längsdruck ihre eigene Knick-, Druck- oder Biegefestigkeit, stellenweise sogar ihr Widerstand gegen radiale Ausweitung durch Stauchung überschritten wird. Durch örtliche Häufung solcher Formen entstehen stellenweise ganz dramatische Bilder des Kampfgewühls (Fig. 6, 10, 11), die den Streit der wachsenden Druckholzfasern um den zu engen Raum eindrucksvoll darstellen. Verbiegungen der Faserenden finden sich sehr oft

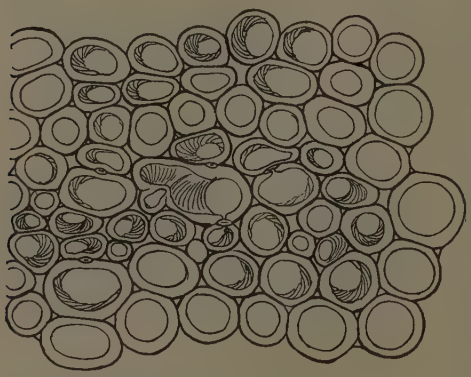


Fig. 7. Druckholz von *Pinus peuce* im Querschnitt mit verbogenen Tracheiden, die im Schnitt schief getroffen sind.

in radialen Reihen, starke Unregelmäßigkeiten wie in Fig. 6, 10, 11 dagegen meist nesterweise gehäuft.

Solche Unregelmäßigkeiten sind am besten im radialen Längsschnitt zu sehen, da die Verbiegungen der Faserenden meist in der Richtung des Stammradius verlaufen. Im Sproßquerschnitt finden sich die verbogenen Fasern schief getroffen, so daß sie mehr oder weniger länglich erscheinen und einseitig ihre spiralig gestreifte Innenwand erkennen lassen (Fig. 7).

Zuweilen sieht man auch, wie die Tracheidenenden sich zwischeneinander keilen und durch gleitendes Wachstum sich zu verlängern suchen, was meist auf unüberwindlichen Widerstand stößt, zuweilen aber auch zur Folge hat, daß benachbarte Tracheiden voneinander gespalten und zur Seite gedrängt werden (Fig. 11 unten links).

Demgegenüber sind beim normalen Holz (Fig. 5a, b) die Tracheidenenden nicht oder nur wenig in der Radialrichtung zur Seite gebogen, und ist der Verlauf der übrigen Faserteile ganz oder fast ganz geradlinig.

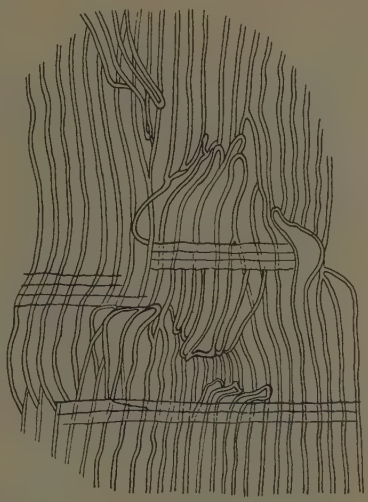


Fig. 8. Druckholz von *Abies pectinata* mit verbogenen und gestauchten Tracheiden.

Fig. 9. Druckholz von *Pinus peuce* tangential. Gekrümmter Faserverlauf.

Besonders ausgeprägt fand ich Knickungen und Stauchungen von Druckholzfasern bei *Pinus peuce*, die ich wegen ihres scharfen Geotropismus, und weil zufällig reichlich Versuchbäume zur Verfügung standen, viel zu meinen Untersuchungen verwendete. Bei *Picea excelsa*, *Pinus silvestris*, *Pseudotsuga Douglasii*, *Abies pectinata*, *Chamaecyparis Lawsoniana* fand ich diese Formen seltener, dafür aber mehr weitausholende oder auch ganz kurzwellige Krümmungen im ganzen Faserverlauf (Fig. 8).

Fig. 10. Druckholz von *Pinus peuce*, radial. Stauchung und Krümmung der Faserenden.

Es ist klar, daß das so sichtlich gestauchte Holz einen elastischen Längsdruck ausüben muß und, weil es nur einseitig auf der Sproß-

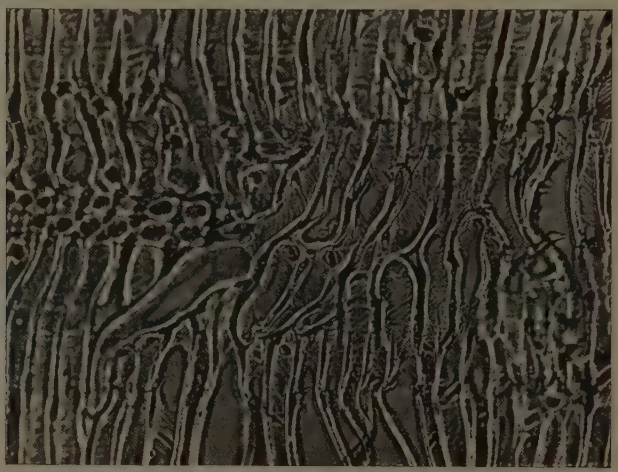


Fig. 11. Wie Fig. 10. Links unten gleitendes Wachstum von Faserenden.

unterseite auftritt, zur Aufkrümmung führt, sobald es sich durch den fortgesetzten Kambialzuwachs zu genügend dicken Schichten angesammelt hat. Besonders ist das anzunehmen von den Fasern und Faserteilen, deren Elastizitätsgrenze durch den Längsdruck nicht überschritten ist, weniger von den geknickten und stark seitlich verbogenen Teilen. Diese aber sind weitaus in der Minderzahl.

Zusammenfassung.

Mit neuer Methode wird bewiesen, daß geotropische Aufkrümmungen verholzter Sprosse beim Nadelholz nur durch Verlängerung der Unterseite, beim Laubholz dagegen nur durch Verkürzung der Oberseite bewirkt werden (Fig. 1—4).

Der Längsdruck der in die Länge wachsenden Druckholzfasern verschiedener Nadelhölzer führt infolge der inneren und äußeren Widerstände in vielen Fällen zu den in Fig. 5—11 abgebildeten Knickungen, Stauchungen und Verbiegungen.

Beiträge zur Vitalfärbung von Pilzmyzelien I[1]).

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Jena.)

Von **Heinrich Johannes.**

Mit 22 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

Im Laufe der letzten Jahre hat die Vitalfärbung pflanzlicher Objekte erhebliche Fortschritte gemacht. Der Begriff „Vitalfärbung" ist aus dem verschwommenen Gegensatz „vital-letal" herausgehoben und deutlich umrissen worden. Was bisher unter diesem Ausdruck zusammengefaßt wurde, hat Strugger (1936) durch eine neue Nomenklatur aufgeteilt. Seine Unterscheidungen ermöglichen es, alles auszuschließen, was nicht im strengsten Sinne „vital" (inturbant) ist. Man hat auch erkannt, daß die Aufnahme und Speicherung der Farbstoffe von den Eigenschaften der Farbe, von der Wasserstoffionenkonzentration des Außenmediums und den physiologischen Eigentümlichkeiten des jeweiligen Versuchsmaterials beeinflußt werden. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, bei jeder vitalen Färbung eines Objektes zuerst eine möglichst eingehende Analyse der maßgebenden Faktoren vorzunehmen.

Die vorliegende Arbeit hat die Aufgabe, die Färbung von Pilzmyzelien zu studieren. Versuche solcher Art sind bereits von Grohrock (1935), Becker u. Skupienski (1935) und Becker (1937b) gemacht worden. Aus ihren Angaben geht aber nicht hervor, ob die Vitalität in jedem Falle gewahrt ist. Gerade hierauf aber wird bei der vorliegenden Untersuchung besonderer Wert gelegt. Unter diesem Gesichtspunkt wird auch die Faktorenanalyse durchgeführt. Es wird weiter geprüft, ob eine Gliederung des morphologisch gleichförmigen Myzels im Sinne der protoplasmatischen Pflanzenanatomie Webers (1925) aufgedeckt werden kann.

Als Versuchsobjekte wurden gewählt: *Phycomyces Blakesleeanus*, *Basidiobolus ranarum* und einige Formen des *Saprolegnia*-Typus.

II. Methodisches.

1. Die Inturbanz der Vitalfärbungen.

Eine inturbante Färbung darf weder während, noch unmittelbar nach ihrer Durchführung, noch bei der Weiterkultur des Pilzes sicht-

1) Erschienen als Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena.

bare Schädigungen der behandelten Zellen erkennen lassen. Die vorliegende Arbeit hat daher grundsätzlich kein Resultat verwendet, das nicht einer inturbanten Färbung entstammt, es sei denn, daß besondere Zwecke auch turbante und perturbante Färbungen erforderlich machten, was dann aber an der betreffenden Stelle hervorgehoben worden ist.

Die Inturbanz einer Färbung wird dann angenommen, wenn die Weiterkultur der gefärbten Myzelien einwandfrei gelingt. Bei der Analyse von *Phycomyces* wurden daher alle Petrischalen mindestens bis zum nächsten Tage nach der Färbung aufbewahrt und unter den gleichen Wachstumsbedingungen gehalten wie die ungefärbten Kulturen. Traten in dieser Zeit Schädigungen auf, so wurden die Ergebnisse für die weitere Verwertung ausgeschlossen.

Bei *Saprolegnia* wurden die gefärbten Kulturen nach Beendigung der Untersuchung wieder in die Kulturflüssigkeit zurückgegeben und während des folgenden Tages auf Schädigungen beobachtet.

Bei *Basidiobolus* konnte die Weiterentwicklung nicht in jedem Einzelfalle nachgeprüft werden. Da hier infolge der anderen Kulturbedingungen (s. d.) nicht ganze Kulturen, sondern nur Myzelstücke zur Untersuchung verwendet wurden, gelangten aus jeder Versuchsreihe nur einige Stücke zur Weiterkultur, von deren Gelingen die Auswertung der Ergebnisse abhängig war.

Sehr wichtig ist es zur Wahrung der Inturbanz der Färbungen weiter, die Farblösungen so herzustellen und anzuwenden, daß bei ihrer Speicherung die Zelle nicht geschädigt wird und daß auch nach dem Austritt aus dem Zellkörper keine pathologischen Erscheinungen entstehen. Zu diesem Zwecke wurde durch eine Reihe von Vorversuchen festgestellt, welche Konzentration bei der Bearbeitung der Pilzmyzelien den gestellten Bedingungen genügt. Es ergab sich, daß meist Konzentrationen von 1/10000 bis 1/100000 brauchbar waren.

Die Dauer der Anfärbung schwankte zwischen einigen Minuten und wenigen Sekunden. Die genaue Angabe der Konzentration der Farblösung und der Dauer der Färbung ist bei der Beschreibung der Einzelversuche zu finden.

Wie aus der Literatur hervorgeht und durch eigene Versuche bestätigt werden kann, gefährdet die Anwendung einfach destillierten Wassers zur Lösung der Farben öfter die Inturbanz. Deshalb wurden alle Farbstoffe und auch die nachstehend erwähnten Puffer in frischem, doppelt destilliertem Wasser gelöst (Fitting, 1927; Konsuloff, 1928).

2. Die Puffer und die gepufferten Farblösungen.

Bei der Herstellung farbloser Puffer und gepufferter Farblösungen wurde so verfahren, wie Strugger (1935, 1938 b) und Drawert (1937 b, c) angeben. Als Stammlösungen wurden verwendet: primäres Kaliumphosphat 9,078 g i. L., sekundäres Natriumphosphat 11,876 g i. L., tertiäres Kaliumphosphat 14,156 g i. L., Salzsäure n/10. Die durch geeignete Mischung der Stammlösungen und der Farbstofflösungen hergestellten pH-Werte wurden regelmäßig mit der Wasserstoffelektrode gemessen. Eine ziemlich fein abgestufte Reihe mit Kaliumfluoreszein, von pH 2,09 bis pH 7,83, ist bei Strugger (1938, S. 255, Tab. 2) mitgeteilt.

3. Ein Apparat zur Vitalfärbung und Dauerbeobachtung eines Pilzes bei verschiedener CH des Außenmediums.

Bei den Untersuchungen war es oft nötig, besondere Stellen eines Myzels einer Dauerbeobachtung zu unterziehen. Während dieser Zeit mußten die Puffer und die Farblösungen gewechselt werden, um die Beobachtung dieser Stelle bei verschiedenen Färbungen und verschiedenen pH-Werten des Außenmediums vornehmen zu können. Dabei durfte der betreffende Teil des Myzels nicht aus dem Auge verloren und der Pilz durch Umlagerung nicht geschädigt werden. Mit den vorhandenen Mitteln ließ sich das nicht erreichen. Auch die Durchführung von Versuchsreihen bei Temperaturkonstanz waren ohne ein besonderes Hilfsmittel unmöglich. Um diesen Schwierigkeiten zu begegnen, stellte ich den in Fig. 1 gezeigten kleinen Glasapparat her.

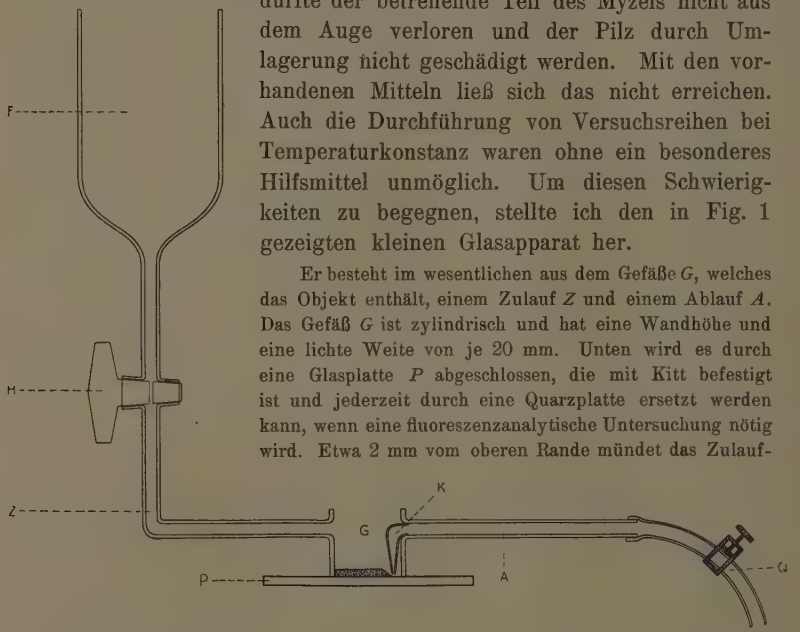


Fig. 1. Apparat zur Dauerbeobachtung von Pilzen. Erläuterung im Text.

Er besteht im wesentlichen aus dem Gefäße *G*, welches das Objekt enthält, einem Zulauf *Z* und einem Ablauf *A*. Das Gefäß *G* ist zylindrisch und hat eine Wandhöhe und eine lichte Weite von je 20 mm. Unten wird es durch eine Glasplatte *P* abgeschlossen, die mit Kitt befestigt ist und jederzeit durch eine Quarzplatte ersetzt werden kann, wenn eine fluoreszenzanalytische Untersuchung nötig wird. Etwa 2 mm vom oberen Rande mündet das Zulaufrohr *Z* waagrecht ein. Der senkrechte Teil des Rohres führt über einen Glashahn *H* in eine Erweiterung, den Fülltrichter *F*. Das Abflußrohr *A* beginnt gegenüber vom Zulaufrohr mit einer Kapillare *K*, die bis zum Boden des Gefäßes *G* reicht. Der Abfluß führt etwa 80 mm weit waagrecht ab. Von dort wird die verbrauchte Lösung durch einen Gummischlauch mit einem Quetschhahn *Q* zu einem Becherglas geleitet.

Das Gefäß *G* steht auf einem heizbaren Objekttisch der Firma Reichert, Wien. Die Heizung erfolgt durch elektrischen Strom und wird durch einen elektrischen Thermoregulator gesteuert, der eine Temperaturkonstanz von $\pm$ 0,2° C erlaubt. Der Apparat selbst ist an einem Stativ neben dem Mikroskop befestigt. Ein Thermometer im Fülltrichter ermöglicht eine Vorkontrolle der Temperaturen der Farblösungen und Puffer.

Vor der Benutzung wird der Apparat sterilisiert, indem er mit Alkohol gewaschen und dann abgebrannt wird. Darauf gießt man auf den Boden des Gefäßes eine dünne Schicht von sterilem Nähragar aus und impft diesen nach seiner Erkaltung mit Sporen oder Myzelstücken. Dann wird der Apparat auf die gewünschte Temperatur eingestellt. Bis zur Erreichung der Temperaturkonstanz vergeht in der Regel eine Stunde. Sobald der Pilz das gesuchte Altersstadium erreicht hat, kann mit der Beobachtung begonnen werden.

Zuerst wird gepufferte Farblösung in den Trichter gefüllt. Durch geeignetes Einstellen der Hähne am Zulauf- und Abflußrohr kann man es erreichen, daß die Farblösung sehr langsam hindurchströmt. Ist die gewünschte Färbungsintensität im Objekt erreicht, so wird in gleicher Weise der ungefärbte Puffer derselben CH durchgelassen. In diesem wird untersucht. Damit die CH konstant bleibt, wird der durchfließende Strom des Puffers so geregelt, daß die Flüssigkeit etwa 3—5 mm hoch über dem Objekt steht. Darauf wird mit Wasserimmersion untersucht.

Mit diesem Apparat ist es möglich, ohne Schädigung der Kulturen: 1. bei CH-Konstanz die Temperatur zu verändern, 2. bei Temperaturkonstanz die CH der Farblösungen und Puffer zu ändern, 3. jedes Färbungsstadium augenblicklich mikrophotographisch festzuhalten.

4. Die photographischen Aufnahmen.

Für alle photographischen Aufnahmen stand mir eine Leichtmetallkamera der Bildgröße 4,5×6 cm, „Macca", Leitz, zur Verfügung; neben diesem Apparat benutzte ich später eine der neuesten Konstruktionen der Zeiß „Miflex" mit Fernrohreinstellung. Als Lichtquelle diente eine Liliputbogenlampe, deren Licht durch eine Küvette mit Kupfersulfat- oder Eisensulfatlösung gekühlt wurde. Alle Aufnahmen wurden in nahezu monochromatischem, grünen Licht gemacht (Lifa 20 oder Schott VG 5).

III. Faktorenanalyse, Wachstumszonen und Gradienten der Färbbarkeit.

1. Analyse der Myzelien von *Phycomyces Blakesleeanus.*

a) Kultur und spezielle Methodik.

Wenn nicht anders angegeben, wurde *Phycomyces* auf Malzagar nach Burgeff (1914) als Einspormyzelium kultiviert. Die Kulturen kamen nach 24—48 Stunden zur Verwendung. Alle die Petrischalen mit vegetativen Myzelien waren für unsere Zwecke brauchbar, die völlig bakterienfrei waren und in denen sich das Myzel von der zentralen Impfstelle aus so weit ausgebreitet hatte, daß es noch etwa 1 cm vom Rande entfernt war.

Zur Gewinnung kopulierender Myzelien wurden Stücke des (+)- und des (—)-Stammes in einer Petrischale etwa 1 cm voneinander entfernt auf den Agar geimpft und im diffusen Tageslicht weiterkultiviert, wodurch die störende Sporangienbildung sich zurückdrängen ließ.

Zur Untersuchung wurde die Agarfläche bei der Färbung mit der gepufferten Farblösung überschichtet. Nur bei älteren und besonders bei kopulierenden Myzelien mußte kurze Zeit unter der Wasserstrahlpumpe evakuiert werden, um eine gleichmäßige Benetzung mit der Farblösung zu gewährleisten. War stark genug angefärbt, so wurde die Farbe abgegossen und durch farblosen Puffer derselben CH ersetzt.

In diesem Puffer wurde bei schwachen Vergrößerungen mit Trockensystemen und bei starken Vergrößerungen mit Wasserimmersionen gearbeitet. Bei dieser Art der Färbung waren Plasmaquellungen nicht zu vermeiden. Sie konnten jedoch für die Zeit der Untersuchung in Kauf genommen werden, da sie bei so beschränkter Dauer keine Gefahr für die Vitalität bedeuten. Das geht schon daraus hervor, daß sogar Quellungen des Gametangienplasmas, wie sie von Balbach (1937) beschrieben wurden, reversibel sind.

b) Die Analyse mit Neutralrot.

Das Myzel.

Alle Versuche, die bei der Analyse des vegetativen Myzels nötig waren, wurden zuerst am (—)-Stamm durchgeführt. Erst als hier völlige Klarheit herrschte, wurden die gleichen Versuche mit dem (+)-Stamm wiederholt. Sie brachten eine Bestätigung der beim (—)-Stamm gewonnenen Ergebnisse. Es ist deshalb nicht nötig, im folgenden zwischen (+)- und (—)-Stamm zu unterscheiden.

Vorversuch I. Eine etwas über 24 Stunden alte Kultur wurde mit einer Neutralrotlösung 1/1000 in einfach destilliertem Wasser (pH 5,0) überschichtet. Nach 2 Minuten wurde die Farblösung abgegossen und durch reines destilliertes Wasser ersetzt. Die mikroskopische Untersuchung ergab in allen lebenden Myzelteilen eine gleichmäßige Membranfärbung. Sehr viele Hyphenspitzen platzten, und der Zellinhalt war herausgetreten und intensiv blaurot gefärbt (Plasmoptyse).

Vorversuch II. Eine andere Kultur des gleichen Alters wurde mit einer Neutralrotlösung 1/1000 in Leitungswasser (pH 7,3) gefärbt. Die Untersuchung zeigte ein ganz anderes Bild. Es war keine Plasmoptyse aufgetreten. Alle Hyphen, außer den ältesten, zeigten statt der Membranfärbung eine Speicherung des Farbstoffs im Zellinnern in Form von kleinen Tröpfchen.

Die beiden Vorversuche zeigen die von Strugger (1936 a) erstmalig quantitativ untersuchte Labilität der Neutralrotspeicherung, die von der CH des Außenmediums abhängig ist. Er stellte fest, daß die Speicherung des Neutralrots bei *Allium Cepa* und in den Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis* im sauren Bereich in der Membran erfolgt und bei alkalischer Lösung in der Vakuole. Dieselbe Gesetzmäßigkeit läßt sich hier beobachten, nur mit dem Unterschied, daß *Phycomyces* das Neutralrot in saurer Lösung in der Membran, in alkalischer Lösung jedoch als Tröpfchen im Plasma der Zelle speichert.

Diese unterschiedliche Speicherungsform des Neutralrots ermöglichte es, nunmehr eine Analyse des Myzels vorzunehmen. Sie geschah

dadurch, daß das Myzel bei den verschiedensten CH-Werten gefärbt und untersucht wurde. Die Versuchsreihen umfaßten pH-Werte von 6,14—10,40. Ihre Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1. *Phycomyces:* Ergebnisse der Färbungen mit Neutralrot. Die Anzahl der Kreuze gibt die Farbintensität an, (+) bedeutet gerade noch sichtbar, — keine Färbung.

pH.	junge Hyphen		alte Hyphen	
	Membran	Tröpfchen	Membran	Tröpfchen
6,14	+++	—	+++	—
6,40	+++	—	+++	—
6,65	+++	—	+++	—
6,74	+++	—	+++	—
6,90	++	(+)	+++	—
6,96	+	(+)	+++	—
7,03	(+)	(+)	+++	—
7,06	—	+	+++	—
7,10	—	++	+++	—

pH.	junge Hyphen		alte Hyphen	
	Membran	Tröpfchen	Membran	Tröpfchen
7,15	—	+++	+++	—
7,23	—	+++	+++	—
7,27	—	+++	+++	—
7,45	—	+++	+++	—
7,82	—	+++	+++	—
8,10	—	+++	+++	—
8,83	—	+++	+++	—
10,40	—	+++	—	++

Um ihre Darstellung übersichtlich zu gestalten, wurden alle pH-Werte, bei denen sich untereinander ähnliche Bilder ergaben, zu Bereichen zusammengefaßt.

pH 6,14 bis 6,40. Die Färbung ist turbant, zum Teil disturbant. Dieser Bereich scheidet daher für die weitere Erörterung aus.

pH 6,40 bis 6,90. In diesem Bereich ist die Färbung inturbant. Das gesamte vegetative Myzel zeigt deutliche Membranfärbung. Alle Membranen, auch die seltenen Quermembranen, sind als intensiv rotbraun gefärbte Linien sichtbar, und zwar dort, wo man sie im Querschnitt sieht. In der Fläche dagegen erscheint die Färbung weniger intensiv und bedeutend bräunlicher. Vom farblos gebliebenen Inhalt ist nichts zu sehen,

pH 6,90 bis 7,06. In der Mitte des Myzels, also im älteren Teile, entsteht das gleiche Bild wie im vorigen Bereich. Diese alten Hyphen zeigen eine sehr deutliche, intensiv braunrote Membranfärbung. Der Inhalt der Hyphen ist völlig farblos und bei der sehr starken Membranfärbung nicht zu erkennen. Doch gegen den Rand des Myzels zu verändert sich das Bild. Die Membranfärbung der alten Hyphen nimmt ab, in mancher jungen Hyphe ist sie noch ebenso stark wie im vorigen Bereiche, in anderen jungen Hyphen ist sie dagegen völlig verschwunden. Die Hyphen, deren Membranen farblos erscheinen, zeigen im Innern

kleine Farbtröpfchen. Diese sind kirschrot und nehmen von der Spitze her an Zahl und Größe ab. Sie liegen stets regellos im Plasma verteilt, niemals in oder an der Vakuole. Ob sie de novo entstehen oder ob sie als Entmischungen der Farbe an Zellbestandteilen (Vakuom?) aufzufassen sind, läßt sich nicht entscheiden. An der Stelle, an der die Membranfärbung beginnt, hört die Tröpfchenfärbung regelmäßig auf.

pH 7,06 bis 8,83. Bei pH 7,1 sind nur die Spitzen des Myzels von einer Membranfärbung frei. Dafür tritt in ihrem Innern die Tröpfchenspeicherung auf. Weiter gegen den alkalischen Bereich nimmt die Membranfärbung zentripetal immer mehr ab, und an ihre Stelle tritt die kirschrote Tröpfchenspeicherung (Fig. 2). Nur die Membranen

Fig. 2. *Phycomyces Blakesleeanus*, Myzel mit Neutralrot gefärbt.

der ältesten Hyphen zeigen noch immer eine stärkere Farbspeicherung, die nach und nach einen gelblichen Farbton annimmt.

Erst im folgenden Bereich, pH 8,83 bis 10,40, verschwindet auch die Membranfärbung der ältesten Hyphen. Jetzt ist überall ohne Ausnahme eine Tröpfchenspeicherung im Innern der Hyphen sichtbar.

Die Erscheinung der allgemeinen Membranfärbung im ersten Bereich von pH 6,40 bis 6,90 ordnet sich ohne weiteres in die bestehende Theorie der Farbspeicherung ein (Strugger, 1938 a, S. 95 ff.). Das Neutralrot ist bei dieser CH noch stark dissoziiert. Da die pflanzlichen Zellmembranen — wie man sieht, auch die des *Phycomyces* — negativ geladen sind, adsorbieren sie die Kationen, also die Farbträger der basischen Farben.

Nicht ohne weiteres einleuchtend erscheinen die Ergebnisse des nächsten Bereichs (pH 6,90 bis 7,06). In der Farblösung befinden sich neben den Ionen zahlreiche Moleküle. Aus diesem Grunde ist sowohl eine Membranfärbung als auch eine Farbspeicherung im Zellinnern zu erwarten. Die Myzelien zeigen auch beide Färbungen. Auffällig dagegen ist, daß die jüngeren Hyphen manchmal Membranfärbung und manchmal Tröpfchenfärbung aufweisen. Die Erklärung für diese Erscheinung ist im folgenden zu suchen.

Bei genauer Betrachtung der Gestalt der Hyphenspitzen lassen sich zwei typische Formen voneinander trennen: die eine Gruppe der Hyphen ist am Ende stumpf abgerundet, die zweite Gruppe weist mehr oder weniger zugespitzte Enden auf. Diesen Gestalttypen entsprechen zwei Färbungstypen: die abgerundeten Hyphenspitzen speichern den Farbstoff in der Membran, die zugespitzten als Tröpfchen im Innern Diese verschiedene Färbung deutet auf das Vorhandensein eines unterschiedlichen physiologischen Zustandes hin, in dem sich die Hyphenspitzen befinden. De Bary (1886, S. 381) und Reinhardt (1892, S. 493, Taf. XXIII, 2 u. 3) weisen darauf hin, daß sich das Hyphenende mit steigender Wachstumsintensität mehr und mehr zuspitzt. Das habe ich durch die Durchführung einiger Wachstumsmessungen nachgeprüft. Wie die in der untenstehenden Tabelle 2 zusammen-

Tabelle 2. *Phycomyces:* Das Wachstum von Hyphenspitzen unter gleichen Bedingungen.
Teilstriche = Stellung der Hyphenspitze zu den Teilstrichen des Okularmikrometers.
Temperatur 21 ° C

I. Hyphenspitze abgerundet, Membranfärbung.		II. Hyphenspitze zugespitzt, Tröpfchenfärbung		I. Hyphenspitze abgerundet, Membranfärbung		II. Hyphenspitze zugespitzt, Tröpfchenfärbung	
Zeit	Teilstriche	Zeit	Teilstriche	Zeit	Teilstriche	Zeit	Teilstriche
16h 26 min.	0	16h 28 min.	0	17h 11 min.	0,35	17h 09 min.	4,9
37	0	35	1	16	0,4	13	5,5
42	0,1	40	1,7	19	0,5	17	6,0
50	0,1	47	2,5	22	0,55	20	6,4
56	0,2	51	3,1	27	0,7	24	6,9
		59	3,8	31	0,8	29	7,3
17h 02 min.	0,2			37	0,95	33	7,7
07	0,3	17h 06 min.	4,3	42	1,1	39	8,2

gestellten Ergebnisse beweisen, ist das Wachstum in den Hyphenenden, die spitz zugehen, viel lebhafter als das in den stumpfen Hyphen. Die beiden Gestalt- und Färbungstypen entsprechen also auch zwei

verschiedenen physiologischen Typen. Worin der physiologische Unterschied, der der verschiedenen Farbspeicherung zugrunde liegt, letztlich besteht, läßt sich noch nicht sagen.

Für die weitere Analyse der Pilzmyzelien ist als wichtig festzuhalten: es lassen sich mit Hilfe der vitalen Neutralrotfärbung stark wachsende und wenig wachsende oder ruhende Teile der Hyphen leicht voneinander scheiden.

In den Bereichen über pH 7,1 ist der Unterschied in der Färbung wachsender und nicht wachsender Hyphen ausgeglichen und nicht mehr erkennbar. Es fällt nur noch die Farbspeicherung in den ältesten Hyphenmembranen auf, die aber im extrem alkalischen Bereich auch noch verschwindet.

Es fragt sich nun, bei welcher CH des Außenmediums eigentlich der Umschlag von der Membranfärbung zur Tröpfchenbildung erfolgt.

Zunächst muß festgestellt werden, daß es einen Umschlagspunkt, der für alle Myzelteile gültig wäre, nicht gibt. Bei den wachsenden Hyphenspitzen erfolgt der Eintritt der Tröpfchenfärbung in der Nähe des pH-Wertes 7,0. Der Umschlag von der Membran- zur Tröpfchenfärbung erfolgt also zuerst in den jüngsten Teilen des Myzels und verbreitet sich mit steigender CH des Außenmediums über die älteren Teile. Es lassen sich also mit Hilfe der vitalen Neutralrotfärbung die älteren Teile des Myzels von den jüngeren scheiden.

Eine ähnliche Trennung von jüngeren und älteren Zellgruppen konnte Strugger (1937 b) an den Wurzeln von *Triticum vulgare* vornehmen. Er unterschied vier Bereiche, die einen verschiedenen Umschlagspunkt hatten: das Meristem, die Streckungszone, die Dauerzone und die Wurzelhaube. Das jüngste Gewebe, das Meristem, besitzt einen Umschlagspunkt im sauren Bereich bei pH 3,8, die etwas ältere Streckungszone um pH 4,0, die ausgewachsene Dauerzone um pH 6,84, und die gealterten Zellen der Wurzelhaube wiesen ihn sogar erst bei pH 7,62 auf. Bei der Beobachtung des Wechsels von der Membran- zur Tröpfchenfärbung bei *Phycomyces* ist zu erkennen, daß die Übergänge von der einen Färbung zur anderen nur gleitend erfolgen und daß Überschneidungen von beiden an jeder Grenze stattfinden. Es läßt sich also in der polyenergiden Riesenzelle, die das Myzel von *Phycomyces* darstellt, ein Längsgradient der Färbbarkeit nachweisen, der von den ältesten Teilen der Zelle zu ihren jüngsten Teilen hin verläuft. Da Strugger einen solchen Längsgradienten sowohl in der Wurzelspitze von *Triticum vulgare* als auch (1936 b) in den wachsenden Blättern von *Helodea canadensis* und *H. densa* feststellen konnte, darf

zusammenfassend gesagt werden, daß sich das einzellige Myzel von *Phycomyces* hier genau so verhält wie ein sich entwickelndes, vielzelliges Organ einer höheren Pflanze.

Neben den zugespitzten Hyphenenden, die als Stätten stärksten Wachstums charakterisiert werden konnten, gibt es noch andere Orte im Myzel, die schnell wachsen. Diese aufzufinden war das Ziel der weiteren Analyse.

Eine starke Wachstumszone war zunächst dort zu erwarten, wo sich im älteren Myzel die Anlagen der Sporangienträger bilden. Wie sich diese Zonen gegenüber der Neutralrotfärbung verhalten, wurde folgendermaßen überprüft: Eine etwa 24 Stunden alte Kultur von *Phycomyces* begann in der Nähe der Impfstelle, also im ältesten Teil des Myzels, Sporangien zu bilden. Einzelne ältere Hyphen verbreiterten sich und sandten einen Seitenast über die Agaroberfläche, der zum Sporangienträger auswuchs. Dabei zeigte bereits der bloße Augenschein ein schnelles Spitzenwachstum. Diese Kultur wurde 10 Min. lang mit einer gepufferten Neutralrotlösung 1/10000 von pH 6,98 gefärbt und dann im farblosen Puffer pH 7,0 untersucht. Es entstanden Bilder, wie sie die Fig. 3 wiedergibt. Die wachsende Zone hebt sich auffällig von dem übrigen Teil der Hyphe ab. Die Membran der Kuppe ist vollständig farblos und erscheint nur als doppelt konturierte Linie, während alle anderen Membranen eine sehr intensive Färbung aufweisen und deshalb als schwarze Linien zu sehen sind. Unter der farblosen Membran der Spitze ist die Farbe im Innern gespeichert. Feine rote Tröpfchen füllen das Innere an der Spitze fast völlig an und nehmen nach unten zu an Zahl und Größe schnell ab. Nur sehr wenig überschneidet sich hier der Bereich der Membranfärbung und der der Tröpfchenfärbung.

Fig. 3. *Phycomyces*, Anlage eines Sporangienträgers, gefärbt mit Neutralrot bei pH 6,98.

Nach drei Stunden wurde dasselbe Objekt noch einmal in gleicher Weise wie oben angefärbt. Wie in Fig. 4 zu sehen ist, hat die Kuppe des Sporangienträgers noch die gleiche Färbung wie vorher. Er wächst noch immer weiter. — Die Vitalfärbung des älteren Sporangienträgers ist noch nicht eingehend geprüft worden. Seine Analyse ist für später geplant.

Ein sehr starkes Wachstum konnte weiter bei der Bildung der Suspensoren und Gametangien vermutet werden. Deshalb wurden nunmehr diese Teile einer Analyse unterworfen. Gefärbt wurden alle Entwicklungsstadien in demselben kritischen pH-Bereich wie die Anlagen der Sporangienträger. Die Ergebnisse sind folgende: Bei einer Membranfärbung in den übrigen Teilen des Myzels wird das Neutralrot in der Spitze der werdenden Suspensoren stets im Zellinnern gespeichert. In dem ersten Stadium der Entwicklung, wenn die gegenüberliegenden Hyphen beginnen, sich zu verbreitern, hat die Tröpfchenspeicherung eine sehr große Ausdehnung. Der ganze verbreiterte Teil ist mit roten Tröpfchen angefüllt. Erst wenn die Suspensoren anfangen, sich zu strecken, wird die „Wachstumszone" wieder an der Spitze zusammengezogen (Fig. 5). Ist die Entwicklung so weit fortgeschritten, daß die Gametangien abgeschnürt werden, so läßt sich die Größe des zukünftigen Gametangiums deutlich sichtbar machen. Fig. 6 zeigt eine Aufnahme von einem Suspensorenpaar, das noch keine morphologisch sichtbare Abgrenzung der Gametangien erkennen ließ. Trotzdem gibt die Neutralrotfärbung mit unverkennbarer Deutlichkeit schon jetzt die Größe und Gestalt des Gametangiums an. Hier ist der im vegetativen Myzel

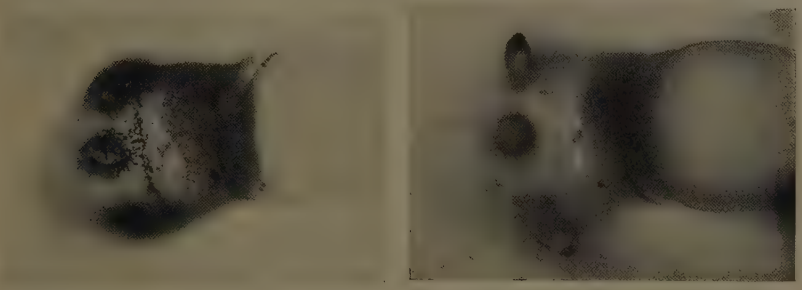
Fig. 4. *Phycomyces*, Anlage eines Sporangienträgers, 3 Stunden später als Fig. 3. Neutralrot, pH 6,98.

Fig. 5. *Phycomyces*, junge Suspensoren mit Neutralrot gefärbt.

Fig. 6. *Phycomyces*, an den oberen Enden der Suspensoren ist die Größe der zukünftigen Gametangien zu erkennen, Neutralrotfärbung.

beobachtete gleitende Übergang von der Membran- zur Tröpfchenfärbung nicht zu sehen, ganz scharf hebt sich vielmehr die Grenze heraus. Bei der Weiterkultur entsteht genau an der Grenze der beiden Färbungen die neue Membran.

Während und nach der Abschnürung der Gametangien an den Suspensoren bilden sich Dornen, deren Ansatzstellen in der Nähe der Gametenwände in einem Ringe um den Suspensor herumliegen. Ihr Wachstum soll jetzt verfolgt werden. Zu dem Zwecke wird das in Fig. 7 a wiedergegebene Suspensorenpaar, das einer Kultur des Baarner Stammes von *Phycomyces* entstammt, mit gepufferter Neutralrotlösung 1/10 000 von pH 7,03 gefärbt und im farblosen Puffer von pH 7,04 untersucht. Man sieht beim linken Suspensor schwache Membran-



a b

Fig. 7. *Phycomyces* (Stamm Baarn). Entstehung der Dornen am Suspensor, Neutralrotfärbung, pH 7,03. a) Tröpfchenfärbung in den Ursprungsstellen der Dornen, b) dasselbe 4 Stunden später.

färbung. Unter seiner Membran sind aber an einigen Stellen starke Ansammlungen von Tröpfchen zu bemerken, die den Suspensor ringförmig umgeben.

Nachdem der Puffer abgegossen war, wurde die gefärbte Kultur zur Weiterentwicklung in Ruhe gelassen. Nach vier Stunden ungestörter Entwicklung wurde die entstandene Situation wieder mikrophotographisch festgehalten (Fig. 7 b). Alle Teile des Objekts haben sich stark entfärbt. Die vorhin bemerkte Tröpfchenfärbung ist verschwunden. Es herrscht noch schwache Membranfärbung. Jedenfalls ist die Farbe durch die Ansäuerung, die beim Wachsen des Pilzes entsteht, noch in geringem Maße in der Membran festgehalten worden. Wichtig für unsere Untersuchung ist, daß an den Stellen, an denen vorher die ringförmig angeordneten Ansammlungen von Tröpfchen im Innern des Suspensors bemerkt werden konnten, jetzt Dornen heraus-

gewachsen sind. Die gleichen Erscheinungen wiesen auch die Suspensoren des Jenaer und des Würzburger Stammes auf.

Zu den letzten Untersuchungen ist folgendes zu bemerken: Die Suspensorwand, an der die Dornen entstehen, ist ausgewachsen. Deshalb zeigt sie bei der Neutralrotfärbung in dem angewandten CH-Bereich reine Membranfärbung. Einige Stellen der Zelle aber speichern den Farbstoff in Tröpfchen, entgegen den dicht anliegenden Teilen des Zellinnern, die völlig ungefärbt bleiben. Die ungestörte Weiterentwicklung der Kultur zeigt, daß an jenen Stellen, an denen Tröpfchen gespeichert wurden, die Dornen entstehen. Es waren also diese Tröpfchenansammlungen dort zu finden, wo neues Wachstum in Vorbereitung war. Mit Hilfe der vitalen Neutralrotfärbung lassen sich mithin auch Wachstumszonen schon zu einer Zeit feststellen, zu der eine entsprechende morphologische Differenzierung des Zellkörpers noch nicht sichtbar ist.

Die keimende Spore.

Direkte Färbung.

Eine Bestätigung der bisherigen Ergebnisse suchte ich durch die Analyse der keimenden Spore zu erhalten. Da es schwierig ist, ein und dieselbe Spore in einer Streuplatte immer wieder zu finden, säte ich wenige Sporen in meinem Glasapparat für die Dauerbeobachtung aus. Nach Orban (1918) keimen die (—)-Sporen nach etwa 11 bis 12 Stunden und die (+)-Sporen nach etwa 8 Stunden. Während dieser Zeit unterließ ich jede Beunruhigung des Quellungsvorganges. Wenn die Spore einen oder zwei Keimschläuche getrieben hatte, wurde sie mit einer gepufferten Neutralrotlösung 1/10000 bei einem pH-Wert von 7,0 gefärbt. Eine deutliche Membranfärbung ist nur an der alten Sporenhaut zu erkennen. Alle übrigen Teile zeigen eine Neutralrotspeicherung in Form von Tröpfchen. Sogar der Sporeninhalt hat Tröpfchen im Plasma. Nach den Erfahrungen, die ich bei den Untersuchungen des ausgewachsenen Myzels gemacht habe, ist es wahrscheinlich, daß sich hier noch das gesamte Plasma im wachsenden Zustand befindet und eine Differenzierung wie im älteren Myzel noch nicht stattgefunden hat.

Nachdem die Beobachtung abgeschlossen war, wurde der Puffer vollständig abgelassen. Erst vier Stunden später wurde dieselbe Spore wieder mit der gleichen gepufferten Farblösung überschichtet. Jetzt trat die Differenzierung zwischen den Spitzen der Keimschläuche einerseits und der Spore und den ihr anliegenden Teilen der Keimschläuche

andererseits auf. Jene zeigten Tröpfchenfärbung im Innern der Zelle, diese Membranfärbung. Die beiden folgenden Figuren (Fig. 8 u. 9) stellen zwei ältere Keimungsstadien dar. Diese wurden mit derselben gepufferten Farblösung wie oben behandelt. Beide Bilder lassen sehr deutlich zwei Zonen erkennen. In der einen Zone haben sämtliche Spitzen farblose Membranen, aber dafür im Innern kirschrote Farbtröpfchen. Der übrige ältere Teil des jungen Myzels dagegen zeigt eine sehr intensive braunrote Membranfärbung. Beide Zonen gehen ineinander über.

Fig. 8. *Phycomyces*, junges Myzel mit Neutralrot gefärbt, pH 7,0, nach einer Mikroaufnahme.

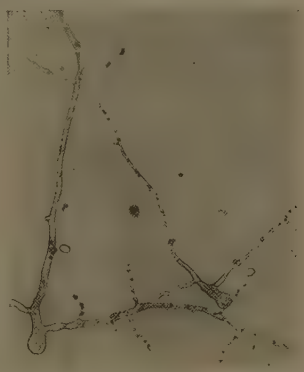


Fig. 9. *Phycomyces Blakesleeanus*, junges Myzel, mit Neutralrot gefärbt.

Es ergibt sich sonach, daß auch im jungen Myzel eine Differenzierung zwischen den älteren und jüngeren Myzelteilen vorhanden ist. Sie ist zuerst etwa vier Stunden nach der Keimung nachweisbar.

Übertragungsversuche.

Die Übertragungsversuche sollen die Abhängigkeit des Speicherungsortes von der CH des farblosen Außenmediums zeigen.

I. Versuchsreihe.

Ein 14 Stunden altes Myzel, das im Glasapparat für Dauerbeobachtung bei einer konstanten Temperatur von 25° C wuchs, wurde mit Neutralrotlösung 1/10000 von pH 6,60 30 Minuten lang teils in fließender, teils in stehender Lösung gefärbt und in dem farblosen Puffer von pH 6,59 beobachtet. Die Fig. 10a zeigt die Färbung des Ausgangsstadiums (pH 6,59). Es ist eine reine Membranfärbung entstanden, die in der Sporenhaut am stärksten, im Myzel schwächer ist. Nur an einer Stelle, im mittelsten Myzelast, ist im Innern ein kleiner Farbtropfen aufgetreten.

1. Übertragung. Der bisherige Puffer wird durch den Puffer von pH 6,8 ersetzt. Nach einer Einwirkung von 30 Minuten Dauer ergibt sich das in Fig. 10b dargestellte Bild. Noch herrscht die Membranfärbung vor. Sie ist an den Spitzen der Hyphen nicht mehr vorhanden. Das vorhin bereits vermerkte Farbtröpfchen hat sich vergrößert, und drei Tröpfchen sind neu aufgetreten.

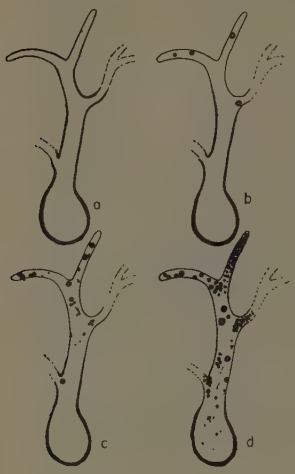


Fig. 10. *Phycomyces Blakesleeanus*, ganz junges Myzel nach Mikroaufnahmen. a) Neutralrot, pH 6,61, b) übertragen in farblose Puffer von pH 6,8, c) in pH 7,05, d) in pH 7,30.

2. Übertragung. Nachdem dieselbe keimende Spore 30 Minuten lang in dem Puffer von pH 7,05 gelegen hat, ist eine Färbung aufgetreten, die Fig. 10c zeigt. Die Membranfärbung ist weiter zurückgegangen. Es ist nur wenig mehr als der Sporenhals gefärbt. Die Zahl der Tröpfchen ist auf über 30 gestiegen.

3. Übertragung. Das kleine Myzel befindet sich jetzt 30 Minuten lang unter der Einwirkung des Puffers von pH 7,30. Wie Fig. 10d zeigt, findet sich die Membranfärbung nur noch in der Sporenhaut. Die Tröpfchenfärbung tritt überall sehr stark auf; sogar innerhalb der Spore sind einige Tröpfchen zu sehen.

Das Myzel ist trotz der langen Dauer der Behandlung, die es erfahren hat (2 Stunden), nicht geschädigt worden. Es ist am nächsten Tage zu einem größeren Myzel ausgewachsen. Die Färbung war also inturbant.

Es ergibt sich: Die bei der Vorfärbung ursprünglich in der Membran gespeicherte Farbe läßt sich durch Veränderung der CH des ungefärbten Außenmediums in der lebenden Zelle schrittweise umlagern, und zwar erfolgt die Umlagerung hier von der Membran zur Speicherung von Tröpfchen im Innern der Zelle.

II. Versuchsreihe.

Es soll zur Sicherung des eben erhaltenen Ergebnisses festgestellt werden, ob innerhalb eines bestimmten Myzels jeder Färbungstypus willkürlich durch die Änderung des pH-Wertes des ungefärbten Außenmediums erzeugt werden kann. Zu diesem Zweck verwenden wir zu den Übertragungen nicht eine Pufferreihe von ansteigender oder fallender Wasserstoffionenkonzentration, sondern eine Reihe mit sprunghaft wechselnden, bald dem sauren, bald dem alkalischen Bereich näherstehenden pH-Werten.

Zum Ausgangsstadium für diese Übertragungsversuche wurde eine keimende Spore gewählt, die bei pH 6,7 und 23° C mit einer gepufferten

Neutralrotlösung 1/10 000 1 Stunde und 20 Minuten lang vorgefärbt wurde. Die Färbung wurde so lange ausgedehnt, damit das Objekt möglichst reichlich Farbe speichern konnte. Es ergab sich folgendes Bild (Fig. 11 c): Die Spore und die ihr anliegenden Teile der Myzeläste zeigen Membranfärbung, die übrigen Teile des Myzels Tröpfchenfärbung. Diese reicht etwa bis zur Mitte der Myzeläste.

1. Übertragung. Das Objekt bleibt 30 Minuten von dem farblosen Puffer pH 6,5 bedeckt. Die Fig. 11 e zeigt, wie die Tröpfchenfärbung verschwunden ist. Dagegen ist überall Membranfärbung aufgetreten. Auffällig ist, daß diese schon nach sehr kurzer Zeit auftritt, während die Entfärbung der Tröpfchen nur langsam vor sich geht.

2. Übertragung. 30 Minuten lang unter farblosem Puffer von pH 6,95. Nach der Fig. 11 a zeigt nur noch die Sporenhaut Membranfärbung, während überall im Innern die Farbe in Tröpfchen sitzt.

3. Übertragung. Die Fig. 11 d gibt das Bild nach einer Überschichtung mit farblosem Puffer vom pH-Wert 6,6 nach 30 Minuten wieder. Ein erheblicher Teil des Myzels, der der Spore zugewandt ist, zeigt Membranfärbung. Im Spitzenteil der Äste sind noch Tröpfchen. Sie breiten sich aber nicht, wie beim Ausgangsstadium, bis zur Mitte der Hyphen aus.

4. Übertragung. Das Objekt ist 30 Minuten mit einem Puffer vom pH-Wert 6,8 überschichtet. Nur Spore und Sporenhals zeigen Membranfärbung. In den übrigen Teilen herrscht Tröpfchenfärbung. Drei Spitzen der Äste sind abgestorben. Sie haben unter der Behandlung, die ungefähr 4 Stunden in Anspruch nahm, gelitten (Fig. 11 b).

Fig. 11. *Phycomyces*, junges Myzel, Übertragungsversuche, nach dem Original. c) Mit Neutralrot gefärbt bei pH 6,7, e) übertragen in farblose Puffer von pH 6,5, a) in pH 6,95, d) in pH 6,6, b) in pH 6,8.

Das Ergebnis dieser zweiten Versuchsreihe ist folgendes: a) Es kann durch Veränderung der CH des ungefärbten Außenmediums nicht nur Membranfärbung in Tröpfchenfärbung übergehen, wie in der ersten Versuchsreihe, sondern auch Tröpfchenfärbung in Membranfärbung. b) Ordnet man die fünf erhaltenen Färbungstypen nach der Höhe des pH-Wertes, dem sie ihre Entstehung verdanken, in eine fortlaufende Reihe, so läßt sich wie in der ersten Versuchsreihe bei sinkender CH

ein allmähliches Verschwinden der Membranfärbung und ein ebensolches Eintreten von Tröpfchenfärbung erkennen. Es ist also für die Erzeugung eines bestimmten Färbungstypus bei demselben Versuchsobjekt gleichgültig, ob sie durch stufenweis sinkende oder steigende CH im Außenmedium oder durch sprunghaftes Einsetzen einer bestimmten CH angeregt wird. Es entspricht somit in ein und demselben Myzel,

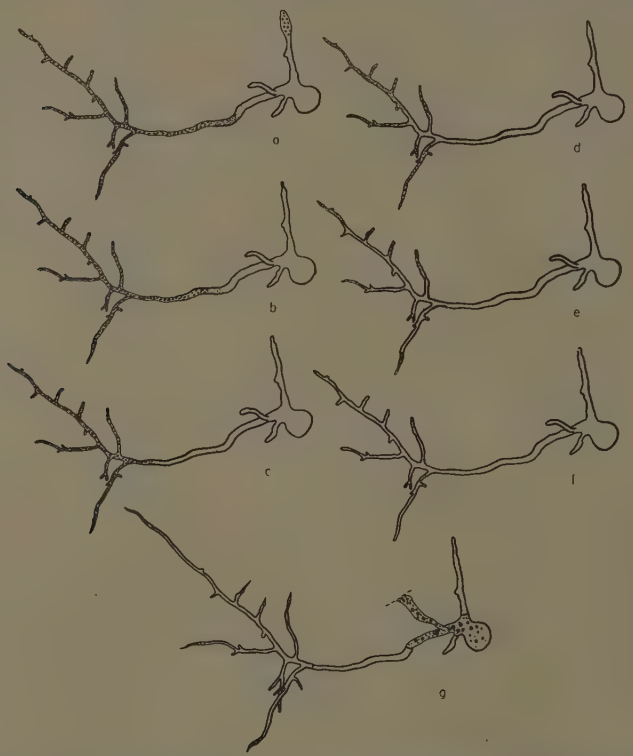


Fig. 12. *Phycomyces*, junges Myzel, Übertragungsversuche, nach dem Original. c) Mit Neutralrot gefärbt bei pH 6,83, a) übertragen in farblose Puffer von pH 7,45, b) in pH 7,30, d) in pH 6,65, e) in pH 6,45, f) in pH 5,70, g) nach 15 Stunden in pH 7,0.

solange es in gleichem physiologischen Zustand verharrt, einer bestimmten CH des Außenmediums ein bestimmter Färbungstyp.

III. Versuchsreihe.

Den Ausgang für die folgenden Übertragungsversuche bildet ein Sporenkeimling, der 50 Minuten lang bei 20° C mit einer Neutralrot-

lösung 1/5000 bei pH 6,83 angefärbt worden ist. Das Myzel zeigt von der Spitze an bis etwas über den Ursprung der Verzweigung hinaus Tröpfchenfärbung, von dort an Membranfärbung (Fig. 12 c). Es werden nun verschiedene farblose Puffer zugegeben, die jedesmal 30 Minuten einwirken:

1. pH 7,45. Die Tröpfchenfärbung dehnt sich von der Spitze an bis fast zur Spore hin aus. In dem nach oben gerichteten Myzelast an der Spore ist Tröpfchenfärbung neu entstanden (Fig. 12 a).

2. pH 7,30. Die Tröpfchenfärbung im langen Myzelast ist etwas zurückgegangen, in dem kleinen Myzelast an der Spore verschwunden (Fig. 12 b).

3. pH 6,65. Die Tröpfchenfärbung hat sich weiter zurückgezogen, dafür hat sich die Membranfärbung entsprechend ausgedehnt (Fig. 12 d).

4. pH 6,45. Die Tröpfchenfärbung ist auf die äußersten Spitzen der Verzweigungen beschränkt, die Membranfärbung hat sich weiter ausgebreitet (Fig. 12 e).

5. pH 5,70. Es ist nur noch starke Membranfärbung vorhanden (Fig. 12 f).

6. pH 7,0. Nach 15 Stunden Ruhe wird das Myzel mit einem Puffer von pH 7,0 30 Minuten lang überschichtet (Fig. 12 g). Das Myzel ist während der Behandlungspause nur wenig gewachsen. Es hat 4 Querwände gebildet. Drei von ihnen schließen einen Raum ein, der von der Spore, dem Sporenhals, einem Teil des längeren Myzelstranges und dem mittleren der kleinen Myzeläste in der Nähe der Spore ausgefüllt ist. Der zuletzt erwähnte Ast ist über die Agarfläche hinaus zum Sporangienträger ausgewachsen, der sich zu der Zeit der Beobachtung im Zustande der Streckung befand. Die äußerste Spitze der Verzweigungen und der von den drei Quermembranen eingeschlossene Raum, der also auch die Basis des sich streckenden Sporangienträgers umfaßt, weisen Tröpfchenfärbung auf, alle übrigen Teile des Myzels schwache Membranfärbung.

Diese Färbung wirkt überraschend. Zu erwarten war für den vorliegenden pH-Bereich (um 7,0) eine Membranfärbung in den älteren Teilen des Myzels und Tröpfchenfärbung in den Verzweigungen, niemals aber eine Tröpfchenfärbung gerade in den ältesten Teilen des Myzels. Das ist nur so zu erklären, daß jene ältesten Teile des Myzels an dem Streckungswachstum des Sporangienträgers beteiligt sind und sich deshalb bei der Vitalfärbung wie das Plasma wachsender Spitzen verhalten.

c) Die Analyse mit anderen Farben.

Es muß nun geprüft werden, ob es sich bei den bisher erhaltenen Ergebnissen um spezifische Neutralrotwirkungen handelt, oder ob auch andere Vitalfarbstoffe gleiche oder vergleichbare Erscheinungen hervorrufen können. Saure Farbstoffe, wie Eosin, Erythrosin, Phloxin, Lichtgrün, sind für die Vitalfärbung von *Phycomyces* ungeeignet. Sie dringen nur im extrem sauren Gebiet, das außerhalb des Lebensbereiches des Pilzes liegt, in die lebende Zelle ein. Von basischen Farbstoffen wurden Nilblau, Chrysoidin, Gentianaviolett, Toluidinblau und Methylviolett zu Färbungen herangezogen. Es ergab sich folgendes:

1. Die fünf basischen Farbstoffe eignen sich nicht in gleicher Weise für den vorliegenden Zweck. Das Chrysoidin kann ohne weiteres als ungeeignet ausgeschieden werden. Auch das Methylviolett darf man für weitere Untersuchungen außer Betracht lassen. Dagegen versprechen Färbungen mit Gentianaviolett und Toluidinblau bei eingehender Analyse ihrer Wirkungen besonders auf dem Gebiete pathologischer Erscheinungen weitere Resultate. Die Ergebnisse, die durch die Färbung mit Nilblausulfat erlangt werden, ähneln den bei Neutralrotfärbungen erhaltenen sehr. Allerdings leidet die Auswertung sowohl der durch Nilblausulfat als auch der durch Gentianaviolett und Toluidinblau veranlaßten Färbungen darunter, daß bei den Schwellenwerten eine eindeutige Festlegung der Farbtönungen durch die bloße Beobachtung sehr schwer ist. Das Neutralrot ist daher für die Analyse von *Phycomyces* als der am besten geeignete Farbstoff anzusehen. Er wird deshalb auch bei der Analyse von *Basidiobolus ranarum* und *Saprolegnia* in erster Linie verwandt werden.

2. Der Umschlagspunkt von der Speicherung des Farbstoffs in der Membran zu der im Zellinnern liegt, soweit die jüngeren Hyphen in Betracht kommen, für alle benutzten Farben bei ungefähr pH 7,0. Je älter die Hyphenteile sind, die angefärbt werden, um so mehr verschiebt er sich nach dem alkalischen Bereiche zu. Es kann also der durch die Neutralrotfärbung gefundene Längsgradient der Färbbarkeit auch bei der Anfärbung mit anderen Farbstoffen aufgezeigt werden.

2. Analyse des Myzels von *Basidiobolus ranarum.*

a) Kultur und spezielle Methodik.

Die Kultur wurde in einer 4%-Peptonlösung vorgenommen. In ihr wächst der *Basidiobolus* vegetativ gut, bildet aber erst nach Erschöpfung der Nährlösung Zygoten. Wenn er schneller zur Zygosporenbildung veranlaßt werden sollte, wurde er in einer Lösung von 2% Pepton und 2% Glukose (Raciborski, 1896) kultiviert. Dann traten schon nach 24 Stunden die ersten Zygoten auf.

Da *Basidiobolus ranarum* nicht wie *Phycomyces* auf Agarplatten gezogen wurde, sondern in einer Flüssigkeit wuchs, war eine Abänderung des bei *Phycomyces* angewandten Untersuchungsverfahrens nötig. Zunächst mußte das der Peptonlösung entnommene Material vor der Untersuchung sehr sorgfältig ausgewaschen werden, damit auch die kleinsten Spuren der Kulturflüssigkeit entfernt wurden; das geschah in einer Pufferlösung, die dem pH-Wert entsprach, bei dem gefärbt werden sollte. Dann wurde das Myzelstück, welches zur Untersuchung vorgesehen war, in die auf den gewünschten CH-Wert abgestimmte

Farblösung getaucht und die überschüssige Farbe in einem farblosen Puffer mit der gleichen Wasserstoffionenkonzentration ausgewaschen. Die Untersuchung konnte nun unter dem Deckglas vorgenommen werden. Als Untersuchungsflüssigkeit wurden die gleichen Pufferlösungen benutzt, die bis jetzt zur Anwendung gekommen waren. Bei länger andauernden Arbeiten mußte der Puffer dauernd ersetzt oder ohne Deckglas mit Wasserimmersion untersucht werden. Für die Arbeit im Hellfeld wurden Objektträger aus Glas, für alle Färbungen mit Kaliumfluorescein und Berberinsulfat solche aus Quarz verwandt. Die Ansäuerung unter Deckglas, die Strugger (1936a) für *Allium Cepa* beschreibt, konnte bei allen kurzfristigen Untersuchungen außer acht gelassen werden.

Da in dieser Arbeit nur völlig ungeschädigte Zellen untersucht werden sollen, mußten alle Teile des Myzels von der Bearbeitung ausgeschlossen werden, die Verletzungen durch den Druck des Deckglases oder durch den Griff der Pinzette erlitten hatten. Die Beobachtung beschränkte sich deshalb fast ausschließlich auf die beiden Spitzenzellen der Hyphen.

b) Die Analyse mit Neutralrot.

Vitalfärbungen mit Neutralrot haben an *Basidiobolus ranarum* schon Becker u. Skupienski (1935) und Becker (1937b) ausgeführt. Gesichert ist durch ihre Untersuchungen, daß sowohl Vakuolenfärbung als auch Tröpfchen-, Plasma- und Kernfärbung auftreten kann. Leider geben die Autoren die näheren Bedingungen, unter denen die Färbung der verschiedenen Zellbestandteile erfolgte, nicht an.

Das Myzel.

Untersucht wurde der pH-Bereich von 2,07 bis 8,33. Die nachstehende Tabelle 3 veranschaulicht die Ergebnisse. Sie sind im folgenden, zu Bereichen zusammengefaßt, eingehender dargestellt.

Tabelle 3. *Basidiobolus:* Ergebnisse der Färbungen mit Neutralrot.

pH	Membran	Typus I		Typus II	
		Plasma	Kern	Tröpfchen	Vakuolen
2,07	—	+	+	—	—
3,46	—	+	+	—	—
4,67	—	+	+	—	—
6,07	—	+	+	(+)	(+)
7,04	—	+	+	+	++
7,21	—	+	+	++	+++
7,76	—	—	—	++	+++
8,33	—	—	—	+++	+++

pH 2,07 bis 4,67. In diesem Bereich waren Plasma und Kern intensiv gefärbt. Es wurde aber nie Plasmaströmung beobachtet, wohl aber Plasmoptysen an den Hyphenspitzen (Úhlela u. Moravek, 1922). Die Färbungen sind also perturbant.

pH 4,67 bis 6,07. Das Neutralrot wird immer noch diffus hellrot im Plasma gespeichert. Nur sehr selten treten vereinzelte Farbtröpfchen auf. Im Kern färbt sich nur die Nukleolarsubstanz (nucléole, caryosome nach Becker u. Skupienski, 1935), die in der Mitte des Kerns einen Zentralkörper bildet. Eine Membranfärbung ist beim normalen Myzel nicht zu sehen, auch keine Plasmaströmung, mithin ist auch die Färbung in diesem Bereich perturbant. Daß jedoch der Zelltod noch nicht eingetreten war, ergab sich aus der Tatsache, daß in einigen Zellen Entfärbung eintrat. Diese Zellen wiesen nach der Entfärbung Plasmaströmung auf und schnürten einige „leere" Zellen ab (Schrittwachstum). Eine wirkliche Zellteilung konnte bei diesem Wachstum nicht nachgewiesen werden. Diese Beobachtung stimmt mit der von Becker u. Skupienski (1935) und von Becker (1937b) überein.

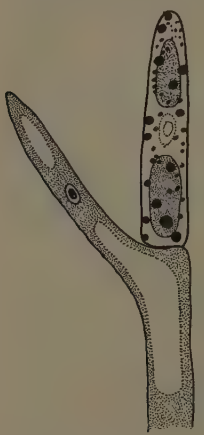


Fig. 13. *Basidiobolus*. Schematische Darstellung der Färbungstypen. Erläuterung im Text.

pH 6,07 bis 7,21. Die schon beschriebene Plasma- und Kernfärbung ist auch jetzt noch aufzufinden. Es treten aber auch Zellen auf, die Vakuolenfärbung und eine ausgezeichnete Plasmaströmung besitzen. Das sind die Spitzenzellen. Diese beiden Färbungstypen zeigt die Fig. 13, die ein Bild wiedergibt, wie es sich fast in allen Kulturen vorfand. Es sind zwei Zellen zu erkennen, welche die Spitze einer Hyphe bilden. Die unter der Spitzenzelle liegende Zelle hat einen seitlichen Auswuchs gebildet, in den der Zellkern eingewandert ist. Beide Zellen weisen einen verschiedenen Färbungsmodus auf. Die auswachsende Zelle zeigt diffuse Plasmafärbung in rosarotem Ton und daneben eine schwach rosige Färbung des Karyosoms; Plasmaströmung ist nicht zu bemerken. Die eigentliche Spitzenzelle dagegen hat nicht die Spur einer Plasma- und Kernfärbung; bei ihr sind jedoch die Vakuolen sehr intensiv gefärbt, und am Rande der Vakuolen und im Plasma fällt eine große Menge von kirschroten Tröpfchen auf. In allen beobachteten Spitzenzellen ist die Plasmaströmung deutlich zu erkennen. Nach mehreren Stunden entfärben sich beide Zellen und wachsen weiter.

pH 7,21 bis 8,33. Jetzt herrscht in allen Zellen Vakuolen- und Tröpfchenfärbung. Dieses Verhalten ordnet sich gut den Erfahrungen ein, die bei der Neutralrotfärbung von *Phycomyces* gewonnen wurden.

Alle bisher beschriebenen Untersuchungen wurden an Myzelien vorgenommen, die in 4% Peptonlösung kultiviert wurden und die keinerlei Ansätze zur Zygosporenbildung machten. In einer älteren Kultur war die Nährlösung durch Verdunstung von Wasser zu einem Substrat von hohem osmotischen Druck geworden. Hier befand sich der Pilz im Stadium der Palmellenbildung. Die Zellen rundeten sich ab und umgaben sich mit einer stärkeren Membran. Die Ergebnisse der Färbung mit Neutralrot gibt die unten stehende Tabelle 4 wieder.

Tabelle 4. *Basidiobolus:* Ergebnisse der Färbungen mit Neutralrot.

		Typus I			Typus II		
pH	Membran	Plasma	Kern	Plasma-strömung	Vakuole	Tröpf-chen	Plasma-strömung
6,54	+++	+	+	—	—	+	+
6,76	++	(+)	(+)	—	+	++	++
6,94	+	—	—	+	++	++	+++
7,11	(+)	—	—	+	+++	+++	+++

Diese Aufstellung ähnelt der unter Nr. 3 angeführten sehr. Besonders hervorzuheben ist folgendes: 1. Es treten auch hier die beiden oben festgestellten Färbungstypen auf. 2. Neu hinzu kommt die Membranfärbung, die bisher völlig fehlte, jetzt aber beiden Färbungstypen eigen ist. Sie wird im sauren Bereich sichtbar und kann, wenn auch sehr schwach, noch bei pH 7,11 erkannt werden. 3. Das Auftreten der Vakuolen- und Tröpfchenfärbung ist in Tabelle 3 an einen anderen pH-Wert gebunden als in Tabelle 4. Der Tabelle 3 liegen Beobachtungen zugrunde, die an einem rein vegetativ wachsenden Myzel gemacht worden sind. Hier wird die Vakuolen- und Tröpfchenfärbung bei pH 6,07 sichtbar. Die Tabelle 4 stützt sich auf Beobachtungen an dem Myzel eines Pilzes, der im Begriffe ist, Palmellen zu bilden. Dabei färben sich die Vakuolen erst bei pH 6,76, und die Tröpfchen treten erst bei pH 6,54 auf. Der CH-Bereich, in dem sich Vakuolen- und Tröpfchenfärbung zeigt, hat sich also bei dem Myzel, das in eine Art Ruhezustand übergeht, nach der alkalischen Seite hin verschoben.

Dieses Verhalten des Myzels von *Basidiobolus* entspricht den Beobachtungen, die Drawert u. Strugger (1938) bei der Färbung der oberen Schuppenepidermis der Zwiebel von *Allium Cepa* mit Methylenblau gemacht haben. Sie fanden, daß der kritische CH-Bereich

für die Membran-Vakuolenfärbung bei angetriebenen Zwiebeln zwischen pH 9 und 10, bei ruhenden Zwiebeln aber zwischen pH 11 und 11,5 liegt.

Eine Rückschau auf die bisher ausgeführten Untersuchungen ergibt folgendes: 1. Bei dem rein vegetativ wachsenden Myzel wird in keinem Bereich eine Membranfärbung gesehen. Sie tritt erst auf, wenn der Pilz Palmellen bildet. Für diese Erscheinung ist zur Zeit eine genügende Erklärung noch nicht vorhanden. 2. Es lassen sich in einem bestimmten pH-Bereich Zellen mit Kern- und Plasmafärbung von solchen mit Vakuolenfärbung trennen.

Diese Ergebnisse verlangen eine Stellungnahme zu den Untersuchungen von Becker u. Skupienski (1935). Die Autoren benutzten bei ihren Versuchen in Leitungswasser gelöstes Neutralrot unbestimmter Konzentration. Leitungswasser hat in der Regel einen pH-Wert von 6,3—7,6. Es wurden also Lösungen mit einer CH verwandt, die ungefähr der des oben geschilderten dritten Bereiches (pH 6,07—7,21) entspricht. Infolgedessen kann erwartet werden, daß in ihren Ausführungen alles das wiederkehrt, was als typisch für diesen Bereich angesehen werden mußte, vor allen Dingen das Vorhandensein der beiden Färbungstypen.

Der in Frage kommende Wortlaut ist folgender (a. a. O. S. 1621): „Sous l'influence d'une plus forte concentration du colorant et probablement du stimulant traumatique, un certain nombre des cellules se colorent vitalement; ce sont les vacuoles, les granulations protoplasmatiques et parfois les membranes qui se colorent . . . . . Nous pouvons constater également des cas curieux de la coloration de noyaux, c'est surtout le nucléole (caryosome) qui prend la colorisation intense".

Die beiden Autoren haben also Vakuolen-, Tröpfchen- und Kernfärbung erkannt. Ihre Beobachtungen erfahren aber durch die oben angeführten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit eine wesentliche Ergänzung. Die Meinung der Verf., daß das Auftreten der genannten Färbungen durch starke Farbkonzentration und Wundreiz hervorgerufen würde, ist als irrig anzusehen.

Zu eingehender Betrachtung geben die Ausführungen Beckers u. Skupienskis Anlaß, die sich auf die von ihnen beobachteten und als „äußerst charakteristisch" bezeichneten Entfärbungsstufen beziehen.

Sie schreiben darüber (a. a. O., S. 1621): „Les étapes progressives de cette coloration sont extrêmement caractéristiques: ce sont tout d'abord les vacuoles, colorées avec le rouge neutre en rouge qui se décolorent, mais les granulations cytoplasmatiques qui les entourent se colorent à leur tour. Parfois une coloration rose apparaît dans le cytoplasme, mais elle dure habituellement très peu de temps. Finalement le colorant disparaît complètement du territoire cytoplasmatique où il se localise dans la membrane".

Dazu ist zu bemerken: Wie aus Tabelle 3 ersichtlich ist, herrscht die Vakuolen- und Tröpfchenfärbung dort vor, wo das Außenmedium neutral (pH 7,0) oder alkalisch ist. Bei steigender Wasserstoffionenkonzentration des Außenmediums bis auf etwa pH 6 wird die Vakuolen- und Tröpfchenfärbung schwächer und geht in Plasma- und Kernfärbung über. Wenn also ein Wandern des Farbstoffes von den Vakuolen zu den Tröpfchen und von dort zu Plasma und Kern beobachtet wurde, so kann das nur auf einer Ansäuerung des Außenmediums beruhen. Da anzunehmen ist, daß die Autoren diese Vorgänge bei der von ihnen angedeuteten Untersuchung unter Deckglas gesehen haben, kann es sich hier vielleicht um das von Strugger (1936a) bei *Allium cepa* beobachtete Phänomen handeln.

Nach den bei der vorliegenden Arbeit gemachten Erfahrungen erfolgt die Entfärbung, wenn sie bei konstanter CH geschieht, nicht stufenweise von einem Zellbestandteil zum anderen. Es gibt vielmehr jedes Zellorganell seine Farbe so ab, daß keine Anreicherung des austretenden Farbstoffes in einem anderen Zellort vor sich geht. Die geringe Menge des durchtretenden Farbstoffs kann daher auf seinem Wege zum Außenmedium an keiner Stelle beobachtet werden.

Es ist weiter auffällig, daß die genannten Autoren das Auftreten von Tröpfchenfärbung bei Vakuolenfärbung als zeitlich hintereinander liegende Entfärbungsstufen ansehen. Diese Auffassung ist nicht haltbar. Das Erscheinen von Tröpfchen nach diffuser Färbung der Vakuole ist vielmehr als Entmischung an kolloidalen Zellsaftkomponenten bei der Färbung zu deuten. Die Farbtröpfchen bilden sich zuerst in der Vakuole, treten aber auch teilweise durch den Tonoplasten hindurch in das Cytoplasma (Guilliermond, bei *Oidium*, 1927; Weber, bei *Helodea*, 1930). Die von Becker u. Skupienski als Entfärbungsstufe aufgefaßte Bildung ist daher als ein Stadium des noch nicht ganz zum Abschluß gelangten Färbungsvorganges anzusehen.

Feststellung eines Gradienten.

In den Hyphen von *Phycomyces* konnte das Vorhandensein eines Längsgradienten nachgewiesen werden. Es fragt sich, ob auch bei *Basidiobolus*, dessen Myzel septiert ist und nicht wie bei *Phycomyces* eine polyenergide Riesenzelle bildet, Gradienten feststellbar sind. Um sie aufzusuchen, wurden Färbungen im pH-Bereich 6,07 bis 7,21 in der oben angegebenen Weise vorgenommen. Dabei bieten sich Bilder, in denen die erste Zelle im apikalen Teil eine starke Vakuolenfärbung aufweist. Nach der Mitte der Zelle zu verliert die Färbung der Vakuolen

immer mehr an Intensität und verschwindet in der untersten Vakuole ganz. Dafür tritt hier eine leichte Plasmafärbung ein. Das bedeutet, daß in dieser Zelle die Speicherungskraft des Plasmas von der Spitze aus basalwärts ansteigt, die Zelle also einen Längsgradienten der Färbbarkeit aufweist.

In der anschließenden Zelle herrscht starke Plasma- und Kernfärbung vor, die aber bei genauer Betrachtung auch nicht überall gleichförmig ist, sondern von der Spitze zur Basis hin an Intensität zunimmt. Es besteht also auch in dieser Zelle ein Gradient gleicher Art. Mithin ist ein Längsgradient vorhanden, der sich über zwei Zellen erstreckt. Ob noch weitere anschließende Zellen in seinen Bereich einbezogen werden, konnte noch nicht mit voller Sicherheit festgestellt werden. Dieser Gradient wird durch das Vorhandensein der Trennwand zwischen beiden Zellen nicht beeinflußt, sondern gleitet ohne Sprung über sie hinweg. Daraus ergibt sich also, daß die beiden Färbungstypen, die oben bei der Färbung im pH-Bereich 6,07 bis 7,21 gesehen wurden, zusammen einen Längsgradienten bilden.

Dieselbe Erscheinung, daß sich der Gradient einer Zellgruppe nicht an die Begrenzung der Einzelzellen bindet, sondern morphologische Trennwände derselben gleitend überschreitet, konnte Strugger im Blatt von *Fontinalis* beobachten. Bei bestimmter CH färbten sich die Membranen aller Zellen der Dauerzone, während die Membranen der Zellen der Streckungszone farblos blieben. Auf der Grenze beider Zonen erscheinen Zellen, in deren Längswänden der Übergang von der Färbung zur Farblosigkeit vor sich geht. Während das eine, der Dauerzone anliegende Ende der Längswände noch deutlich gefärbt ist, läßt in der Richtung gegen die Streckungszone die Farbspeicherung so schnell nach, daß sie bereits in der Mitte der Längsmembran unsichtbar wird. (Nach persönl. Mittlg. v. Herrn Dr. Strugger; erscheint in der Protoplasma-Monographie, in Bearbeitung.)

c) Die Analyse mit anderen Farben.

Die Untersuchungen mit Methylenblau und Prune pure boten nichts Neues. Eine inturbante Membranfärbung bei *Basidiobolus* ließ sich auch durch diese Farben nicht nachweisen.

Für das Auffinden auch geringster Farbspuren in den Teilen einer pflanzlichen Zelle hat sich nun die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung den bisherigen Beobachtungen weit überlegen gezeigt. Das von Strugger (1938) benutzte sehr lichtstarke Zeißsche Fluoreszenzmikroskop stand auch mir zur Verfügung.

Berberinsulfat.

Verwendet wurde das Präparat von Merck (Nr. 1817) in der Konzentration 1/10000. Es sind nur Kurzfärbungen von 1—15 Sekunden Dauer vorgenommen

worden. Die Zusammensetzung der Puffer geschah wieder in der üblichen Weise. Auch die Durchführung der Färbung unterschied sich von der bisherigen Form nicht.

Die Ergebnisse stellt die Tabelle 5 dar. Von pH 2,04 bis 2,40 ist nur Membranfärbung zu finden. Im Anschluß daran tritt schwache Färbung im Kern wie bei Neutralrot auf, die sich bei pH 3,50 sehr verstärkt. Neben der Kernfärbung ist eine intensive diffuse Plasmafärbung zu beobachten. Allerdings tritt diese Speicherung im Plasma erst etwas später als die im Kern auf. Bei pH 3,07 ist sie noch so schwach, daß der Kern mit seinem helleuchtenden Karyosom und seiner deutlich gefärbten Kernmembran das Bild beherrscht. Erst bei pH 3,50 nimmt die Plasmafärbung an Intensität zu, um bei pH 4,78 so stark zu werden, daß sich die Kernfärbung kaum noch aus dem Bilde heraushebt.

Die diffuse Speicherung im Plasma von *Basidiobolus* unterscheidet sich wesentlich von der Plasmafärbung, die Strugger (1939) an *Allium*-Zellen erhielt. Bei *Allium* färben sich nur die Mikrosomen elektiv an, während die Grundsubstanz des Plasmas ungefärbt bleibt. Ob auch bei *Basidiobolus* die Mikrosomen das Berberinsulfat speichern, kann wegen der diffusen Färbung der Grundsubstanz nicht einwandfrei entschieden werden.

Tabelle 5. *Basidiobolus:* Ergebnisse der Färbungen mit Berberinsulfat.

pH	Kern	Plasma	Membran
2,04	—	—	+
2,14	—	—	+
2,25	—	—	+
2,40	—	—	+
2,61	(+)	—	+
2,94	(+)	(+)	+
3,07	+	(+)	?
3,50	+++	(+)	?
4,19	+++	+++	?
4,78	+++	+++	?

Tabelle 6. *Basidiobolus:* Ergebnisse der Färbungen mit Kaliumfluoreszein.

pH	Kern	Plasma	Membran
2,04	+++	+++	?
2,14	+++	+++	?
2,25	+++	+++	?
2,40	+++	+++	?
2,61	++	+++	?
2,94	+	+++	?
3,87	—	+++	(+)
4,19	—	++	(+)
4,78	—	(+)	+
5,26	—	—	+

Kaliumfluoreszein.

Benutzt wurden das Präparat von Merck (Nr. 4998) und ein K.-Fluoreszein R der I. G.-Farbwerke. Beide Farbstoffe zeigten übereinstimmendes Verhalten, so daß unten nicht weiter zwischen ihnen unterschieden wird. Sie wurden in einer Verdünnung von 1/10000 zu Kurzfärbungen von 1—15 Sekunden Dauer verwandt. Die Methode war wie bei den anderen Farbstoffen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 dargestellt. Eine Membranfärbung ist etwa von pH 4,0 an bis in den alkalischen Bereich hinein

sichtbar. Unter pH 4,0 wird das Kaliumfluoreszein im Innern der Zelle, in Kern und Plasma gespeichert. Während das Plasma eine diffuse Färbung zeigt, hat im Kern nur das Karyosom die Farbe gespeichert. Diese Kernfärbungsbilder scheinen im Gegensatz (soweit sich der Zellkern von *Basidiobolus* überhaupt mit dem von *Allium* vergleichen läßt!) zu den Untersuchungen Struggers bei *Allium* zu stehen. Er konnte zeigen, daß bei der Behandlung mit dem basischen Berberinsulfat nur das Kerngerüst und bei Färbung mit dem sauren Kaliumfluoreszein nur die Kernlymphe, in beiden Fällen aber die Nukleolen den Farbstoff aufnahmen. Ich konnte beim Kern von *Basidiobolus* nie eine distinkte Kerngerüst- oder Kernlymphenfärbung erzielen. Immer speicherte nur der Zentralkörper die Farben. Nach Bělař (1926) soll sich, wie bei vielen Protistenkernen, das Karyotin um den Zentralkörper, die Nukleolarsubstanz, lagern und nicht immer nachweisbar sein. Das würde meine Ergebnisse erklären. Es sei noch bemerkt, daß eine einwandfrei positive Feulgenreaktion bei *Basidiobolus* nicht zu erlangen war. Daß der Zentralkörper aus Nukleolarsubstanz besteht, scheint dadurch bestätigt zu sein, daß er sich sowohl mit basischen als auch mit sauren Farbstoffen färbt.

Es ist auch ein Unterschied in der CH-Abhängigkeit der Kern- und Plasmafärbung, wie ihn Strugger aufzeigen konnte, zu erkennen. Die Kernfärbung hört gegen pH 3,0 auf, die Plasmafärbung bleibt aber noch bis pH 4,78 sichtbar. Von diesem Punkte an ist auch die Färbung der Membran einwandfrei nachweisbar. Daß sie nicht schon früher deutlich wird, liegt daran, daß die Hyphen des *Basidiobolus* einen so starken Plasmabelag besitzen, daß dadurch einerseits eine Membranfärbung verdeckt, anderseits aber auch vorgetäuscht werden kann.

Die Vitalität der Färbungen mit Kaliumfluoreszein ist nicht anzuzweifeln. Sogar die Plasmoptysen, die nach Úhlela und Moravek (1922) zu erwarten waren, blieben aus. Bei den kurzfristigen Versuchen traten auch keine Schädigungen durch das ultraviolette Licht auf.

Die Untersuchungen mit dem Fluoreszenzmikroskop zeigen also entgegen den Beobachtungen im Hellfeld doch das Auftreten einer Membranfärbung. Nach den oben dargelegten Feststellungen scheint sie zu verschwinden, wenn die Plasmafärbung erscheint. Mitunter jedoch sieht es so aus, als leuchte die Membran mit, wenn auch schwächer als das Plasma. An besonders günstigen Stellen ist aber sicher zu erkennen, daß auch neben der Plasmafärbung eine Färbung der Membran besteht, sogar zu einer Zeit, in der wegen des verwandten Puffers keine Speicherung in der Membran zu erwarten war. Diese Fest-

stellung spricht aber dagegen, daß es sich hier um eine Speicherung des Farbstoffes handelt, wie bei *Phycomyces*. Es kann nur eine Imbibition der Zellwand vorliegen. Eine solche würde im Hellfeld wegen der geringen Konzentration der Farblösung nicht zu erkennen sein. Im Lumineszenzmikroskop zeigt sie sich aber, wenn nicht Farbspeicherungen in anderen Zellorganellen ihre geringe Leuchtkraft überstrahlen. Es wird damit also als bewiesen angesehen, daß die Membran von *Basidiobolus* die Farbstoffe bei inturbanten Färbungen nicht zu speichern vermag. Die Membran ist aber mit der Farblösung imbibiert.

Ein Vergleich der Färbungen mit Berberinsulfat und Kaliumfluoreszein, also mit einem basischen und einem sauren Farbstoff (Tabelle 5 und 6), führt auf eine Frage, die außerhalb unserer bisherigen Betrachtungen gestanden hat. Die Tabellen zeigen, daß sich die Wirkungen beider Farbstoffe am gleichen Objekt in eigentümlicher Weise ergänzen. Ungefähr in demselben pH-Bereich, in dem die Färbung jedes einzelnen Zellorganells durch den sauren Farbstoff aufhört, beginnt die Färbung durch den basischen deutlich zu werden. Da beide Untersuchungsreihen als einwandfrei vital anzusehen sind, ist vielleicht ein Schluß auf die ungefähre Lage des isoelektrischen Punktes der in Frage kommenden Zellanteile gestattet; der IEP liegt im Kern (Nukleolarsubstanz) etwa bei pH 2,94, im Plasma etwa bei pH 4,19.

3. Analyse des extramatrikalen Myzels von *Saprolegnia* sp.

a) Kultur und spezielle Methodik.

Alle Saprolegniaceen, die zur Untersuchung gelangten, stammen aus einem kleinen Waldtümpel, dessen Wasser sehr sauer (pH 3,85 im Mai) ist. Von den auf Ameisenpuppen gefangenen Pilzen wurden Stammkulturen auf Carrageen-Agar nach Höhnk (1934/35) angelegt. Zur eigentlichen Untersuchung werden die Pilze in Flüssigkeitskulturen weitergezogen. Diese erhält man dadurch, daß man ein Stück Agar mit wenig Myzel zusammen mit zwei Ameisenpuppen in ein Schälchen steriles Wasser bringt. Nach 24—36 Stunden sind die Ameisenpuppen befallen und können in abgekochtem Leitungswasser weiterkultiviert werden. Nur ganze Kulturen gelangten zur Untersuchung, also eine Ameisenpuppe mit dem äußerlich anhängenden extramatrikalen Myzel des Pilzes. Dieses braucht zur Vorbereitung der Färbung nicht gewaschen zu werden, da es in reinem Wasser gewachsen ist. Die Färbungen erfolgen wie vorn angegeben. Durch die Beobachtung unter Deckglas werden die Hyphen, die nach oben und unten ragen, gedrückt. Diese geschädigten Teile des Myzels dürfen nicht bei der Untersuchung berücksichtigt werden. Wo nichts anderes angegeben wird, liegt allen Untersuchungen eine *Saprolegnia* aus der *monoica*-Gruppe zugrunde.

b) Die Analyse mit Neutralrot.

Mit der gepufferten Neutralrotlösung 1/10000 wurde der pH-Bereich von pH 2,14—7,02 untersucht. Die Anfärbung dauerte jedesmal 10 Sekunden. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 7 zusammengestellt.

pH 2,14—6,14. Es tritt keine Membranfärbung auf, trotzdem sie theoretisch in diesem Bereich zu erwarten wäre. Die Plasmafärbung bei pH 4,24 ist disturbant: die Plasmaströmung hört sofort auf, und nach wenigen Minuten sterben die gefärbten Hyphen ab.

pH 6,14—7,02. Plasma und Membran speichern keinen Farbstoff. Die vielen kleinen Vakuolen, die die *Saprolegnia* im ungefärbten Zustande besitzt und die zusammengefaßt als Vakuom bezeichnet werden, verschmelzen durch die Behandlung mit Neutralrot zu einer großen Zentralvakuole (Dubitzki, 1934). Diese färbt sich diffus an. Bei pH 6,7 wird ihre Färbung sehr stark, und sie behält ihre Intensität bis zum höchsten pH-Wert dieses Bereiches. Ihr oberes Ende ist gelb gefärbt. Von dort zur Basis hinab geht das Gelb gleitend in Orange und endlich in kräftiges Rot über. Nach 1—5 Minuten beginnt in der Vakuole eine Entmischung der Farbe. Es bilden sich in ihr kirschrote Tröpfchen, wobei die diffuse Färbung immer mehr verschwindet. Mit dem Wachsen der Tröpfchen treten auch einige durch den Tonoplasten hindurch ins Plasma über und bleiben in der Nähe der Vakuole liegen. Diesen Entmischungsvorgang hat Guilliermond 1927 schon bei *Oidium lactis* beobachtet.

Tabelle 7. *Saprolegnia* sp.: Ergebnisse der Färbung mit Neutralrot.

pH	Membran	Plasma	Vakuole
2,14	—	—	—
3,68	—	—	—
4,24	—	(+)	—
6,14	—	(+)	+
6,51	—	—	++
6.70	—	—	+++
6,87	—	—	+++
7,02	—	—	+++

Der bei der Diffusfärbung der Zentralvakuole auftretende Farbwechsel von der Spitze zur Basis hin darf nicht als die Wirkung eines Gradienten gedeutet werden. Es liegt hier vielmehr nichts anderes vor als die Färbung einer Neutralrotlösung von verschiedener Schichtdicke bei durchfallendem Licht. Durch einen Modellversuch ist der Beweis hierfür schnell zu erbringen. Es wird eine Neutralrotlösung 1/10000 so gepuffert, daß sie die gleiche rote Farbtönung zeigt, die an der Basis der Vakuole auftritt. Das ist ungefähr bei pH 7,6 der Fall. Diese Lösung wird in den Chlorophyllkeil gebracht und im durchfallenden Lichte betrachtet. Die Spitze des Keils erscheint jetzt gelb, die Mitte orange und die Basis rot.

Wenn ein Sporangium mit einer Neutralrotlösung, die etwa die CH des Leitungswassers hat, nicht länger als 30 Sekunden gefärbt und dann wieder zurück in Leitungswasser gebracht wird, schlüpfen die reifen Sporen noch aus. Ihre Weiterentwicklung zeigt, daß die Färbung völlig inturbant ist. Selbst während der Keimung der Sporen, nach ihrem zweiten Bewegungsstadium, ist die Vakuole noch schwach gefärbt.

Die Ergebnisse der Färbung von *Saprolegnia* mit Neutralrot sind folgende: In keinem Bereich tritt Membranfärbung auf. *Saprolegnia* verhält sich in dieser Beziehung wie *Basidiobolus*. Die Vakuolenfärbung ist gänzlich inturbant. Myzelien und Sporen, deren Vakuolen gefärbt sind, wachsen normal weiter. Ein Gradient der Färbbarkeit ist nicht nachzuweisen. Die Plasmafärbung ist inturbant.

C. Die Analyse mit anderen Farben.

Kaliumfluoreszein.

Gefärbt wurde mit gepufferten Lösungen 1/10000 von verschiedenen pH-Werten 10 Sekunden lang und untersucht in den entsprechenden farblosen Puffern im Lumineszenzmikroskop. Die Ergebnisse der Reihenuntersuchungen sind in der linken Spalte der Tabelle 8 zusammengestellt.

Tabelle 8. *Saprolegnia* sp.: Gegenüberstellung der Färbungsergebnisse mit Kaliumfluoreszein und Berberinsulfat

pH	Plasmafärbung	
	Kaliumfluoreszein	Berberinsulfat
4,09	+++	—
4,56	+++	—
5,28	++	—
5,75	+	+
6,17	—	++
6,31	—	+++
6,54	—	+++
7,22	—	+++
11,40	—	+++

Kaliumfluoreszein gibt ausgesprochene Plasmafärbungen. Die Grundsubstanz des Plasmas ist diffus gefärbt, die Tröpfchen leuchten heller, sind also stärker angefärbt als die Grundsubstanz. Von pH 4,09 bis pH 4,56 ist die Färbung des Plasmas sehr stark. Von hier an nimmt sie langsam ab und verschwindet bei pH 6,17 vollständig. Von diesem pH-Wert an ist im ultravioletten Licht nur noch ein Leuchten der Membran zu sehen. Das ist aber nicht so stark, wie es bei einer Speicherung des Farbstoffes in der Membran sein müßte. Es liegt vielleicht nur eine Imbibitionsfärbung der Membran vor, wie sie bereits bei *Basidiobolus* nachgewiesen werden konnte. Entgegen den Erfahrungen, die bei der Neutralrotfärbung gemacht wurden, bleibt die Schaumstruktur des Vakuoms erhalten. Es schließen sich zwar mitunter kleine Vakuolen zu etwas größeren zusammen, doch entsteht nie eine Zentralvakuole.

Die Inturbanz der Färbungen steht außer Zweifel. Treten Schädigungen durch die U. V.-Bestrahlung auf, so verschwindet das gelbgrüne Leuchten des Objekts und macht einer grauen Farbe Platz. Das tritt in der Regel erst nach einer Untersuchungsdauer von 15 Minuten auf. Keine Kultur wurde aber nur annähernd so lange dem ultravioletten Licht ausgesetzt. Auch die Weiterkultur der gefärbten Myzelien und Sporen gibt die Gewißheit, daß Schädigungen nicht eingetreten sind. Angefärbte Sporangien sind imstande, ihre gefärbten Sporen ausschlüpfen zu lassen. Diese wieder haben nichts von ihrer Beweglichkeit verloren. Bringt man sie auf Carrageen-Agar, so enzystieren sie sich wie ungefärbte Sporen und schlüpfen wie diese auch zum zweiten Bewegungsstadium aus. In den ausschlüpfenden Sporen ist immer noch Plasmafärbung sichtbar.

Berberinsulfat.

Die Methode und Verdünnung bleibt wie oben. Die rechte Spalte der Tabelle 8 gibt die Färbungen wieder. Es herrscht wieder nur Plasmafärbung, die bei pH 5,75 beginnt, also gerade da, wo die Färbung mit Kaliumfluoreszein aufhört. Bei pH 6,17 ist sie schon sehr stark und bleibt so bis zum höchsten untersuchten pH-Wert 11,40. In dem Bereich unter pH 5,75, wo die Plasmafärbung noch nicht aufgetreten ist, zeigt die Fluoreszenz der Membran eine leichte Färbung derselben an. Ebenso wie in den Versuchen mit Neutralrot wird es sich wohl um eine Imbibitionsfärbung handeln. Vakuolenfärbung tritt nicht auf, jedoch gelegentlich die Bildung einer Zentralvakuole.

Bei all diesen Versuchen zeigte sich die gute Brauchbarkeit des Berberinsulfats zu Vitalfärbungen. Die Weiterkultur ließ keinen Zweifel an der Inturbanz sämtlicher Färbungen mit Berberinsulfat zu.

IV. Die elektive Färbung der Gametenwände.

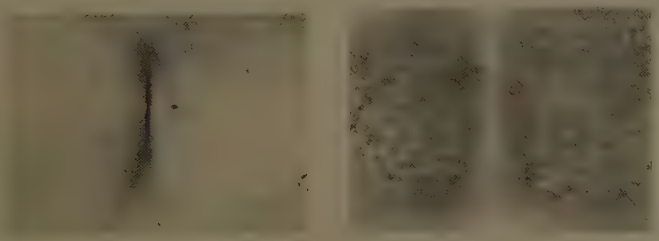
Die Membran von *Phycomyces* färbt sich, wie oben festgestellt worden ist, im sauren Bereiche. Bei der Neutralrotfärbung vollzieht sich der Umschlag von der Membranfärbung zur Tröpfchenfärbung in jungen Hyphen ungefähr bei pH 7,0, bei älteren Hyphen bleibt die Membranfärbung z. T. noch bis weit in den alkalischen Bereich hinein erhalten und schlägt im Durchschnitt erst bei pH 9,0 in Tröpfchenfärbung um. Alle Membranen, sowohl die der jüngeren Hyphen als auch die der älteren, nehmen einen bräunlichen Farbton an.

Bei *Basidiobolus* konnte im vegetativen Myzel keine Speicherung eines Farbstoffes in der Membran festgestellt werden, sondern nur eine

Imbibition mit der jeweiligen Farblösung. Nur wenn der Pilz in das Palmellenstadium übergeht, reichern sich die Zellwände bei der Vitalfärbung mit Farbstoff an.

Im extramatrikalen Myzel von *Saprolegnia* endlich gelang es ebenfalls nicht, Membranfärbung zu erzeugen. Durch Untersuchung im Fluoreszenzmikroskop läßt sich zeigen, daß auch hier wahrscheinlich nur Imbibition der Membran, niemals aber Speicherung des Farbstoffes vorliegt.

Jetzt wird auf eine Erscheinung aufmerksam gemacht, die aus dem Rahmen der üblichen Membranfärbung herausfällt. Färbt man *Phycomyces* durch gepufferte Neutralrotlösungen 1/10000 mit pH-Werten an, die ungefähr zwischen pH 6,40 und 7,3 liegen, so entsteht in den Wänden, die die Gametangien von den Suspensoren trennen, und in



a b

Fig. 14. *Phycomyces*, gefärbte und ungefärbte Trennwand der Gametangien. a) Neutralrot pH 6,96, b) Neutralrot pH 7,4.

der Wand, die zwischen den beiden Gametangien liegt, — sie sollen alle drei gemeinsam als Gametenwände bezeichnet werden — eine auffällige Färbung.

Die Fig. 14a zeigt die oberen Enden der beiden Suspensoren in starker Vergrößerung. Die Aufnahme ist zu einer Zeit gemacht worden, als sich die Suspensoren kaum mit ihren Spitzen gegeneinander gelegt hatten. Da die Farblösung den pH-Wert 6,96 hatte, ist in den Suspensoren die Membranfärbung noch vorherrschend. Deutlich ist hier zu sehen, wie sich die Grenzwand beider Suspensoren weit intensiver als die übrige Zellwand gefärbt hat. Sie sieht auch nicht braun aus, sondern kirschrot.

Eine ähnliche Situation ist in Fig. 14b festgehalten worden. Die Färbung ist aber bei pH 7,4 erfolgt. Jetzt haben die Suspensoren die Farbe als Tröpfchen im Zellinnern gespeichert. Die Gametenwand aber ist entfärbt.

In Fig. 6 (S. 68) ist der Augenblick dargestellt, in dem die Bildung der Gametangien zuerst mit Hilfe der Neutralrotfärbung deutlich gemacht werden kann. Die beiden Trennwände zwischen Gametangien und Suspensoren sind noch nicht gebildet worden, ihre Lage zeichnet sich aber schon durch die scharf gezogene Grenze zwischen starker Tröpfchenspeicherung im Raume der künftigen Gametangien und einer sehr schwachen Membranfärbung in den angrenzenden Teilen der Suspensoren deutlich ab. Die zwischen den beiden künftigen Gametangien liegende Trennwand aber ist, trotz der Färbung bei pH 7,1, intensiv kirschrot.

Fig. 15. *Phycomyces*, Gametenwände mit Neutralrot gefärbt, pH 6,95.

Die Fig. 15 gibt ein viel späteres Stadium der Entwicklung wieder. Die Gametangien sind von den Suspensoren abgeschnürt worden. Die beiden Wände zwischen den Suspensoren und Gametangien sind vorhanden und fallen wie die Trennwand der Gametangien durch ihre intensivere Färbung auf (gefärbt bei pH 6,95). (Auf der Mikroaufnahme ist die mittlere Gametenwand nicht sichtbar, obwohl sie ebenso gefärbt ist wie die beiden seitlichen. Das kommt daher, daß bei der Aufnahme die optische Ebene höher liegt als die Mittelmembran.)

Fig. 16. *Phycomyces;* die mittlere Trennwand der Gametangien löst sich auf. Neutralrotfärbung, pH 7,0.

Auf der Fig. 16 erkennt man Kopulationsorgane, bei denen die Verschmelzung der beiden Gametangien zur Coenozygote begonnen hat. Die seitlich liegenden Gametenwände sind weiterhin intensiv kirschrot gefärbt. Die mittlere dagegen ist in der Auflösung begriffen. Ihre Fragmente haben dieselbe Färbung behalten, welche die Wand als Ganzes auszeichnete (pH 7,0).

Diese Färbung der Gametenwände konnte auch bei der Benutzung von Methylenblau und nicht nur beim Jenaer Stamm,

sondern auch bei den Stämmen aus Würzburg und Baarn nachgewiesen werden.

Aus dem Gesagten ergibt sich: Die Färbung der Gametenwände mit Neutralrot ist bedeutend intensiver als die sonstige Membranfärbung und hat einen kirschroten Farbton, der dem der Tröpfchenfärbung im Plasma weit mehr ähnelt als dem bräunlichen der sonstigen Membranfärbung. Zunächst tritt sie in demselben pH-Bereiche auf, für den die Membranfärbung überhaupt charakteristisch ist, also vom sauren Bereich an bis pH 7,0. Darüber hinaus bleibt sie aber noch bis ungefähr pH 7,3 bestehen. Sie ist also noch bei einer CH des Außenmediums vorhanden, bei der in den übrigen Teilen des Myzels Tröpfchenfärbung im Plasma, aber keine Membranfärbung mehr zu sehen ist. Wird das Außenmedium noch alkalischer, so entfärben sich die Gametenwände. Damit die Vereinigung der Zellinhalte beider Gametangien eintreten kann, zerfällt die mittlere Gametenwand. Dieser Zerfall kann mit Hilfe der vitalen Neutralrotfärbung in seinem Verlaufe beobachtet werden.

Diese Art der Färbung, wie sie eben beschrieben worden ist, kann mit Recht als eine elektive Färbung bezeichnet werden; denn sie tritt aus dem Rahmen der üblichen Membranfärbung durch ihren Farbton, durch die Intensität der Färbung und durch das Überschreiten der Grenze des pH-Bereichs, der für die Membranfärbung junger Hyphen bei *Phycomyces* als normal anzusehen ist, heraus.

Bei der Färbung des *Basidiobolus* tritt uns die gleiche Erscheinung entgegen. Wenn sich der Gehalt an Nährstoffen in der zur Kultur gebrauchten 4% Peptonlösung der Erschöpfung zuneigt oder die vorn angeführte Nährlösung nach Raciborski (1896) als Nährflüssigkeit benutzt wird, so beginnt das Myzel Zygoten zu bilden. Zwei nebeneinander liegende Zellen bringen an ihrer Trennwand charakteristische Schnabelfortsätze hervor. In diesen Fortsätzen geht eine Kernteilung vor sich (Olive, 1907). Der eine der jungen Tochterkerne wandert in jeder Zelle in die Spitze des Fortsatzes, die sich durch eine Membran von dem übrigen Teil der Zelle abschließt. Diese Kerne degenerieren. Dann beginnt die Querwand der beiden großen Zellen sich aufzulösen, und bald tritt der Inhalt der einen Zelle in die andere über und läßt einen leeren Zellraum zurück. Die Zelle, in der die Vereinigung stattgefunden hat, baucht sich nun aus und umgibt sich schließlich mit einer mehrschichtigen Membran. Die Zygote ist gebildet. Die Quermembran der beiden kopulierenden Zellen hat also eine ähnliche Funktion, wie sie der mittleren Gametenwand bei *Phycomyces* zukommt. Sie soll daher auch als Gametenwand bezeichnet werden.

Färbt man diese Entwicklungszustände mit gepufferten Neutralrotlösungen bei verschiedenen pH-Werten an, so sieht man wieder das Auftreten einer elektiven Färbung. Sie ist auf die Querwand der beiden kopulierenden Zellen beschränkt. Die in den Schnabelfortsätzen gebildeten kleinen Membranen und die anderen Quer- und Längsmembranen des Myzels färben sich nicht elektiv. Die Färbung der Quermembran der beiden Kopulationszellen ist durch dieselben Merkmale charakterisiert, welche die Gametenwände bei *Phycomyces* auszeichnen (Fig. 17).

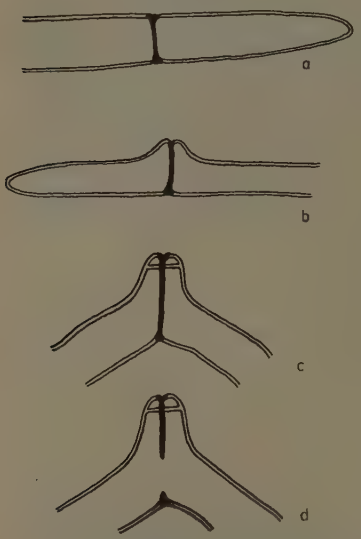


Fig. 17. *Basidiobolus*, Färbung und Auflösung der Gametenwand.

Die elektive Färbung der Gametenwand wirkt bei *Basidiobolus* besonders deshalb so auffällig, weil außer dieser Membranfärbung sonst keine Speicherung des Farbstoffs in einer Zellwand zu erhalten ist. Merkwürdig ist weiter, daß die elektive Färbung der Gametenwand schon zu einem Zeitpunkt nachzuweisen ist, an dem eine morphologische Andeutung der Bildung von Schnabelfortsätzen noch nicht wahrgenommen werden kann (Fig. 17a).

Erst die Weiterkultur der in Frage kommenden Zellpaare nach der Färbung gab die Gewißheit, daß überall da, wo sich in gefärbten Myzelien Querwände elektiv gefärbt herausheben, nach der Entfärbung normale Zygoten gebildet werden.

Bei *Saprolegnia* sind die Kopulationsorgane in Oogonien und Antheridien differenziert. Es finden sich Membranteile am Oogon, die bei der Vitalfärbung auf dieselbe Weise reagieren wie die Gametenwände. Das sind die Tüpfel des Oogons. Um sie zu untersuchen, unterwerfen wir die Kopulationsorgane von *Saprolegnia* der Färbung mit gepufferten Neutralrotlösungen 1/10000 bei verschiedenen pH-Werten. Dabei zeigt sich, daß bei pH 6,65, also in einem Bereich, in dem schon starke Vakuolenfärbung auftritt, die Tüpfel sich elektiv färben. Für das Auftreten dieser Erscheinung ist es gleichgültig, ob sich dem Tüpfel bereits ein Antheridium anlegt, oder ob der Tüpfel noch frei ist. Die elektive Färbung tritt weiter sowohl bei jungen

Oogonien auf, deren Inhalt noch nicht in Oosphären differenziert ist, als auch bei älteren Oogonien.

Fig. 18 zeigt ein Oogon, das bereits ausgebildete Oosphären in sich schließt. Während in den Oosphären und in dem tragenden Hyphenende Tröpfchenfärbung herrscht, zeigt der Tüpfel wieder starke elektive Färbung. Dem Tüpfel liegt hier ein ausgebildetes Antheridium an, das nach der Resorbierung der Tüpfelmembran seinen Keimschlauch in das Innere des Oogons senden wird.

Fig. 18. *Saprolegnia* sp., reifes Oogon und Antheridium mit den elektiv gefärbten Tüpfelmembranen. Neutralrotfärbung, pH 6,65.

Rückblickend wird festgestellt:

1. Das Auftreten von elektiv gefärbten Gametenwänden ist an die Stellen des Myzels oder die Organe gebunden, die einem bestimmten physiologischen Vorgange dienen, der geschlechtlichen Fortpflanzung. Ihre Funktion besteht darin, den beiden getrennten Geschlechtszellen durch ihren Zerfall den Weg zur Vereinigung frei zu machen. Bei *Phycomyces* übernehmen sie auch die Trennung der Geschlechtszellen vom vegetativen Myzel.

2. Sobald bei unseren Pilzen eine Membran zur Gametenwand wird, nimmt sie die elektive Färbung an. Es können also Membranen so gefärbt werden, die eben erst zu dem genannten Zwecke entstehen, wie das bei *Phycomyces* der Fall ist. Aber auch ältere Membranen aus dem vegetativen Myzel färben sich noch vor jeder Andeutung morphologischer Veränderungen elektiv, wenn sie im Laufe der weiteren Entwicklung zu Gametenwänden werden; so bei *Basidiobolus*. Endlich unterliegen auch solche Membranen der elektiven Färbung, die für ihren Zweck morphologisch bereits vorgebildet sind, wie die Tüpfel am Oogon von *Saprolegnia*.

3. Die elektive Färbung der Gametenwände ist an eine bestimmte CH des Außenmediums gebunden. Der Bereich, in dem die Färbung entsteht, stimmt nicht mit dem Bereich überein, in dem sonst Membranfärbung auftritt oder erwartet werden könnte. Bei einer Färbung im stärker alkalischen Bereich verschwindet sie. Sie ist auch bei Pilzen vorhanden, deren Membranen den Farbstoff sonst überhaupt nicht speichern.

4. Elektive Färbung der Gametenwände ist nur mit basischen Farbstoffen zu erreichen. Alle Versuche mit sauren Farben fielen negativ aus.

5. Zu ergründen, welche Vorgänge dieser eigentümlichen Färbung zugrunde liegen, seien es physiko-chemische oder chemische, muß weiteren Forschungen vorbehalten bleiben.

V. Der Geschlechtscharakter der beiden Myzelien von *Phycomyces Blakesleeanus*.

Verschiedene Forscher haben sich seit Blakeslee (1904) bemüht, qualitative oder quantitative physiologische Unterschiede zwischen den (+)- und den (—)-Stämmen isogamer heterothallischer Mucoraceen aufzufinden. In folgendem soll versucht werden, mit Hilfe der inturbanten Vitalfärbung eine Unterscheidung der isogamen Gametangien des heterothallischen *Phycomyces Blakesleeanus* vorzunehmen.

Fig. 19. *Phycomyces*, Geschlechtsorgane, Neutralrotfärbung, pH 6,90.

Die Methode bleibt dieselbe, wie sie bereits bei der Analyse des nicht kopulierenden Myzels von *Phycomyces* angewandt wurde. Es werden ganze Kulturen kopulierender Myzelien mit sehr verdünnten gepufferten Farblösungen angefärbt und dann in farblosen Puffern von gleicher CH untersucht. Für den vorgesehenen Zweck sind nicht lange Reihenuntersuchungen nötig, die sich auf weite pH-Bereiche erstrecken, sondern nur Färbungen, die sich im kritischen Bereich, also dicht um den Umschlagspunkt der jungen Hyphen (pH 7,0), bewegen.

Zuerst wurde die Analyse mit Neutralrot vorgenommen. Es werden zwei kopulierende Myzelien in der Petrischale mit gepufferter Neutralrotlösung 1/10000 von pH 6,90 5 Minuten lang überschichtet und im farblosen Puffer bei pH 6,92 untersucht. Das Bild, das die Kopulationsorgane nach einer solchen Färbung zeigen, ist in Fig. 19 wiedergegeben. In beiden Suspensoren ist eine Membranfärbung zu erkennen, aber die Membran des linken Suspensors ist erheblich stärker gefärbt als die des rechten. Die beiden Wände, die die Gametangien von den Progametangien abtrennen, sind gleichmäßig elektiv gefärbt. Die beiden Gametangien selbst haben eine sehr unterschiedliche Färbung angenommen: das linke ist erheblich dunkler als das rechte.

Infolge der Verschlingungen und Verzahnungen, welche die Myzeläste unter den Suspensoren bilden, ist es sehr selten möglich, die Zuordnung des einzelnen Suspensors und des zugehörigen Gametangiums zum (+)- oder (—)-Stamm durch den bloßen Augenschein mit Sicherheit vorzunehmen. Um Irrtümer auszuschließen, wird das von Burgeff vorgeschlagene Verfahren zu jeder derartigen Feststellung angewandt. Er bringt eine heiße Nadel so in die Nähe eines Suspensors, daß sie möglichst weit vom anderen Suspensor entfernt bleibt. Dadurch tritt in dem Progametangium, das der Nadel am nächsten liegt, eine Erhöhung der Transpiration ein. Diese wird bald so stark, daß sie in dem zugehörigen Myzel einen Druckstrom erzeugt. Mit Hilfe dieses Druckstromes ist nun die Zugehörigkeit zum (+)- oder (—)-Myzel leicht festzustellen. In dem Falle der Fig. 19 ist der links liegende Suspensor der vom (—)-Myzel, während der rechte zum (+)-Myzel gehört.

Mit Hilfe dieses Verfahrens wurde in mehr als 200 Fällen festgestellt, daß bei einer CH des Außenmediums, die etwa dem pH-Wert 6,90 entspricht, der Suspensor und das Gametangium des (—)-Stammes eine intensivere Membranfärbung aufweist als der Suspensor und das Gametangium des (+)-Stammes.

Es soll nun festgestellt werden, in welchem pH-Bereich eine unterschiedliche Färbung in den Geschlechtsorganen der beiden Stämme von *Phycomyces* auftritt. Zu diesem Zwecke werden Reihen von gepufferten Neutralrotlösungen 1/10000 hergestellt, deren Glieder sehr geringe CH-Unterschiede aufweisen. Die Ergebnisse der Färbungen mit diesen Feinreihen sind so übereinstimmend, daß die in Tabelle 9 angegebenen Färbungsresultate als typisch angesehen werden können.

Tabelle 9. *Phycomyces:* Die Färbungen der Kopulationsorgane mit Neutralrot im kritischen pH-Bereich um pH 7,0.

pH	Membranfärbung der Kopulationsorgane		Tröpfchenfärbung der Kopulationsorgane	
	(+)	(—)	(+)	(—)
6,68	++	++	—	—
6.85	+	++	(+)	—
6,95	(+)	++	+	—
7,00	(+)	+	++	(+)
7,01	(+)	+	++	+
7,10	—	—	+++	+++

Aus der Übersicht geht folgendes hervor: Bei pH 6,68 haben die Geschlechtsorgane beider Stämme für das Auge eine gleich starke Membranfärbung. Von hier ab tritt bei steigender CH ein Unterschied

in der Färbung ein, der sich erst zwischen pH 7,01 und pH 7,10 wieder verliert. Die unterschiedliche Färbung der Kopulationsorgane erstreckt sich über den pH-Bereich 6,70 bis 7,0. Mithin ist der Umschlagspunkt Membran-Tröpfchenfärbung in den Kopulationsorganen des (+)-Myzels gegenüber dem in den Sexualorganen des (—)-Stammes um ungefähr 0,3 pH-Stufen nach dem sauren Bereich hin verschoben.

Um festzustellen, auf welchen Entwicklungsstufen der Kopulationsorgane dieser Unterschied sichtbar zu machen ist, werden möglichst viele dieser Entwicklungsstadien untersucht. Da sich bei der Durchmusterung der Kopulationszone der Kulturen alle Entwicklungsstufen finden, kann diese Frage auf Grund sehr zahlreicher Beobachtungen einwandfrei beantwortet werden.

Die Fig. 20 zeigt die Kopulationsorgane im Stadium der ersten Umschlingung. Das Objekt hat sich gerade über die Oberfläche des Agars erhoben. Die Färbung ist mit einer gepufferten Neutralrotlösung von pH 6,80 vorgenommen worden und hat 10 Minuten gedauert. Man sieht rechts den stark gefärbten Hauptast des (—)-Stammes und links einen ebenfalls intensiv gefärbten Teil der Verzahnung. In der Mitte liegen die schwächer gefärbten Stücke des (+)-Myzels.

Fig. 20. *Phycomyces*, Neutralrotfärbung der ersten Umschlingungen der beiden kopulierenden Myzelien, pH 6,80.

Das Entwicklungsstadium, das Fig. 5 (S. 68) darstellt, ist 5 Minuten lang bei pH 7,10 gefärbt worden. Es handelt sich hier um den pH-Bereich, in dem die erste Tröpfchenbildung auftritt. Die Umschlingungen und Verzahnungen der Hyphen sind beendet, die beiden Suspensoren liegen aber noch langgestreckt nebeneinander. Der linke Suspensor gehört zum (—)-Myzel, der rechte zum (+)-Myzel. Beide Progametangien unterscheiden sich durch die Ausdehnung der Tröpfchenfärbung voneinander. Während das Innere des (+)-Suspensors in seiner ganzen Ausdehnung bereits starke Tröpfchenfärbung zeigt, hat das Innere des (—)-Suspensors nur an der Spitze Ansammlungen von Tröpfchen aufzuweisen. Membranfärbung ist nur noch schwach im (—)-Suspensor zu erkennen.

In Fig. 21 sind die Gametangien schon seit einiger Zeit von den Suspensoren abgeschnürt worden. Der (—)-Suspensor, links, zeigt sehr starke, der (+)-Suspensor, rechts, bedeutend schwächere Membranfärbung. An der mittleren Trennwand der beiden Gametangien ist

ein morphologischer Zerfall noch nicht deutlich zu erkennen. Trotzdem muß die Vereinigung des Plasmas der Gametangien bereits begonnen haben; denn die Färbung beider Gametangien hat ihren Unterschied verloren.

Die drei dargestellten Phasen der Entwicklungsreihe der Kopulationsorgane von *Phycomyces* zeigen folgendes: Die unterschiedliche Färbung der (+)- und der (—)-Progametangien und Gametangien ist bei allen Entwicklungsstadien bis zum Eintritt der Plasmogamie deutlich zu sehen. Mit der Vereinigung der Zellinhalte der beiden Gametangien fällt zuerst der Unterschied in der Färbung der Gametangien und später auch der in den Suspensoren weg.

Fig. 21. *Phycomyces*, Geschlechtsorgane, Neutralrotfärbung, pH 6,88.

Nun fragt es sich: Ist der festgestellte Unterschied auf die Suspensoren und ihre Gametangien beschränkt oder ist er auch in den Hyphen des Myzels nachweisbar? Daß ein Färbungsunterschied zwischen den nicht kopulierenden Myzelien des (+)- und (—)-Stammes durch die benutzte Methode nicht nachgewiesen werden konnte, ist oben bereits dargelegt worden. Es war also zu ermitteln, ob außer den Suspensoren und Gametangien noch andere Teile der kopulierenden Myzelien sich im Speicherungsvermögen für Neutralrot unterscheiden. Reihenuntersuchungen, die auf alle Entwicklungsstadien der kopulierenden Myzelien ausgedehnt wurden, ergaben, daß der Unterschied in der Neutralrotspeicherung in der Membran von Hyphenteilen des (+)- und des (—)-Stammes erst auftritt, wenn sich die kopulierenden Myzelien innig berühren.

Ob sich dieser Unterschied, wie man nach den Versuchsergebnissen annehmen könnte, auf den Teil des zuführenden Myzelastes beschränkt, der in unmittelbarer Nähe der Kopulationszone liegt, oder ob sich die kopulierenden Myzelien als ganzes unterschiedlich färben, läßt sich mit Hilfe der angewandten Methode nicht eindeutig entscheiden. Die Kopulationszone ragt über den Agar hinaus, auf dem der Pilz wächst, während sich die Hyphen immer ein wenig innerhalb des Agars befinden. Die Hyphen bieten also der Farblösung bedeutend

weniger Fläche zu ihrer Aufnahme dar als die frei in der Farbflüssigkeit befindlichen Kopulationsorgane. Um eine so intensive Färbung der Hyphen zu erhalten, daß ein etwa vorhandener Unterschied in der Färbung der beiden ganzen Myzelien deutlich zu sehen wäre, müßte die Färbung so lange ausgedehnt werden, daß in den Kopulationsorganen bereits Schädigungen auftreten. Darunter würde die Inturbanz der Färbung und damit die Sicherheit des Ergebnisses leiden.

Wiederholung der Versuchsreihen mit anderen basischen Farbstoffen, nämlich mit Methylenblau und Toluidinblau, brachte dieselben Ergebnisse wie die Versuche mit Neutralrot.

Zu allen bisherigen Untersuchungen wurde das Jenaer Stammpaar von *Phycomyces Blakesleeanus* benutzt. Es stammt aus der Sammlung von E. Stahl und wurde von Burgeff als besonders konstant befunden. Burgeff verwandte die beiden Stämme bei seinen Beobachtungen als Vergleichskultur. Auch jetzt konnte während einer Kultur von über 2 Jahren keine Mutation festgestellt werden. Trotzdem sind zur Sicherung der Ergebnisse ein Würzburger Stammpaar [(+)-Stamm Nr. 46, (—)-Stamm Nr. 48] und ein Stammpaar aus dem Zentralbureau voor Schimmelcultures Baarn (Zycha) als Vergleichsobjekte herangezogen worden.

Die beiden fremden Stammpaare wurden in derselben Weise kultiviert wie die Jenaer Stämme. Es waren in der Entwicklung weder der vegetativen noch der kopulierenden Myzelien irgendwelche Verschiedenheiten gegenüber den bisherigen Kulturen zu bemerken. Um den Vergleich völlig eindeutig durchführen zu können, wurden zu den Färbungen und Beobachtungen die gleichen Farblösungen und Puffer verwandt, die bei den Jenaer Stämmen Anwendung gefunden hatten. Es ergab sich, daß auch die neuen Stämme den gleichen Färbungsunterschied zwischen den Geschlechtsorganen des (+)- und des (—)-Stammes aufwiesen.

Nach diesen Feststellungen kann als bewiesen gelten, daß die Progametangien und Gametangien des (—)-Stammes von *Phycomyces Blakesleeanus* bei einer CH des Außenmediums, die zwischen den pH-Werten 6,70 und 7,0 liegt, eine stärkere Membranfärbung besitzen als die gleichen Organe des (+)-Stammes. Die Kopulationsorgane des (+)-Stammes weisen also ein stärkeres Speicherungsvermögen des Zellinneren für basische Farbstoffe auf als die des (—)-Myzels.

Nachdem Drawert (1937 a, b, c, d) durch den Ausbau der Methoden von Pischinger (1926, 1927) und Naylor (1926) einige

Gradienten, die die Vitalfärbung aufdeckte, auch an mit Alkohol fixierten Objekten hat nachweisen können, war zu prüfen, ob die verschiedene Färbung der Kopulationsorgane der beiden Stämme von *Phycomyces* auch an so fixiertem Material sichtbar zu machen ist.

Als Fixierungsmittel wurde nach Drawert 70% Alkohol gewählt. Er dehydratisiert, läßt aber die Ladung bestehen. Die Fixierung geschah etwa 15 Minuten vor der Färbung durch Übergießen der Kultur in der Petrischale mit dem Alkohol. Um stets den Vergleich mit der vitalen Färbung zu ermöglichen, wurde regelmäßig die Hälfte einer Kulturserie mit Alkohol fixiert, während die andere am Leben erhalten wurde. Die ganze Kulturreihe wurde dann mit denselben gepufferten Farblösungen behandelt und nebeneinander in denselben farblosen Puffern untersucht. Da vollständige Kulturen kopulierender Myzelien zur Untersuchung herangezogen wurden, konnten auch alle Entwicklungsstadien der Kopulationsorgane erfaßt und zugleich die an die Kopulationszone anstoßenden Myzelteile beobachtet werden.

Fig. 22. *Phycomyces*, Teil der Kopulationszone, fixiert mit 70% Alkohol, gefärbt mit Neutralrot bei pH 6,96.

Ein Beispiel solcher Fixierungsfärbung gibt die Fig. 22. Das Objekt ist kurz vor der Untersuchung fixiert, dann mit gepufferter Neutralrotlösung 1/10000 von pH 6,96 10 Minuten lang gefärbt und im farblosen Puffer von pH 7,01 beobachtet worden. Es ist ein deutlicher Unterschied in der Intensität der Färbung der Progametangien und Gametangien der beiden Myzelien zu sehen. Der Farbunterschied in den angrenzenden Hyphen wird sehr deutlich. Die in der Figur von links kommende Hyphe stammt vom (—)-Myzel und zeigt Membranfärbung. Der von rechts unten aufsteigende Ast des (+)-Myzels hat die Farbe im Plasma gespeichert. In größerer Entfernung von der Kopulationszone (mehr als 3 mm) ist ein Unterschied in der Färbung der Hyphen nicht mehr zu erkennen.

Der Unterschied in der Färbung der beiden Suspensoren und Gametangien sowohl wie der in unmittelbarer Nähe der Kopulationszone liegenden Hyphenteile ist an dem Material, das mit Alkohol fixiert

wurde, mit gleicher Deutlichkeit nachweisbar wie am lebenden. Die unterschiedliche Färbung beruht hier auf Wirkungen elektrostatischer Art. Eine wesentliche Verschiedenheit liegt aber darin, daß der Speicherungsmodus der Farbe im Innern der Zelle beim lebenden Objekt ein anderer ist als beim fixierten Material. Während sich der gesamte Zellinhalt der fixierten Kopulationsorgane diffus färbt, weisen die lebenden Zellen eine Tröpfchenfärbung im Plasma auf. Immerhin zeigt es sich, daß das Speicherungsvermögen des Zellinhaltes für Neutralrot in den Kopulationsorganen des (+)-Myzels auch beim fixierten Material größer ist als in denen des (—)-Myzels.

VI. Die oogame Kopulation einer Saprolegniacee.

Bei den Saprolegniaceen sind die Geschlechtsorgane in Oogonien und Antheridien differenziert. Diese werden jetzt im lebenden Zustand gefärbt, um festzustellen, ob auch sie ein verschiedenes Speicherungsvermögen für Vitalfarbstoffe aufweisen.

Da aus den vorn beschriebenen Versuchen an *Saprolegnia* hervorgeht, daß sich das Neutralrot für ihre Färbung wenig eignet, wurde nach einer Farbe gesucht, die den physiologischen Unterschied zwischen Oogonium und Antheridium ohne weiteres augenscheinlich macht. Diese wurde im Kaliumfluoreszein gefunden. Es verursacht eine diffuse Plasmafärbung, die bei schwacher Vergrößerung homogen erscheint und deshalb den Unterschied in der Farbintensität deutlich hervortreten läßt.

Tabelle 10. *Saprolegnia* sp.: Die Plasmafärbung des Oogons und des Antheridiums mit Kaliumfluoreszein.

pH	Plasmafärbung im	
	Oogonium	Antheridium
4,09	+++	+++
4,56	++	+++
5,28	+	+++
5,75	(+)	+++
6,17	((+))	++
6,31	—	++
6,54	—	+
7,22	—	—

Die Tabelle 10 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse einer Reihenuntersuchung. Die Färbungen wurden mit gepufferten Lösungen 1/10 000 bei den in der Übersicht angegebenen pH-Werten 10 Sekunden lang vorgenommen.

Es zeigt sich, daß sowohl das Oogonium als auch das Antheridium im sauren Bereich etwa bis pH 4 hin eine sehr starke Plasmafärbung besitzen, sich also wie die vegetativen Hyphen verhalten. Diese starke Färbung behält das Plasma des Antheridiums bis pH 6,17 bei. Von dort an erfolgt eine langsame Abnahme der Intensität der Fluoreszenz.

Diese ist aber bei pH 6,54 noch sehr deutlich sichtbar. Dann verschwindet sie. Das Oogonium dagegen zeigt schon bei pH 4,56 eine deutlich schwächer gewordene Fluoreszenz. Die Intensität verliert sich so schnell, daß bei pH 5,75 nur noch eine schwache Andeutung der Fluoreszenz festzustellen ist. Bei den höheren pH-Werten ist keine Farbspeicherung mehr zu erkennen.

Es färbt sich also das Plasma des Antheridiums von *Saprolegnia* mit dem sauren Kaliumfluoreszein **länger** als das Plasma des Oogons. Mithin kommt dem männlichen Geschlechtsorgan ein stärkeres Speicherungsvermögen für Kaliumfluoreszein zu als dem weiblichen.

Der bei *Saprolegnia* gemachte Befund ist für die Geschlechtsbestimmung der isogamen Kopulationsorgane von *Phycomyces* nicht ohne Bedeutung. Wie wir bei der Färbung von *Basidiobolus* mit Berberinsulfat und Kaliumfluoreszein feststellen konnten, liegt der IEP eines Zellorganells dort, wo die Färbung mit einem basischen Farbstoffe aufhört und die mit einem sauren beginnt. Es ist also zu vermuten, daß im Oogon von *Saprolegnia* der IEP der speichernden Ampholyte bei pH 5,5, im Antheridium bei pH 6,5 liegt. Auf die gleiche Weise ist die Lage der IEP der Plasmen der Kopulationsorgane von *Phycomyces* zu erschließen. Er würde für die Geschlechtsorgane des (+)-Myzels um pH 6,70 und für die des (—)-Myzels bei pH 7,0 zu suchen sein.

Ein Vergleich von *Saprolegnia* und *Phycomyces* zeigt, daß bei den Kopulationsorganen des (+)-Stammes von *Phycomyces* und bei dem Oogon von *Saprolegnia* der IEP des Plasmas weiter im sauren Bereich liegt als bei den Kopulationsorganen des (—)-Stammes von *Phycomyces* und den Antheridien von *Saprolegnia*.

Daraus könnte als weitere Arbeitshypothese gefolgert werden, daß sich die Kopulationsorgane des (+)-Myzels von *Phycomyces Blakesleeanus* wie das weibliche Sexualorgan von *Saprolegnia*, die Kopulationsorgane des (—)-Myzels wie das männliche Sexualorgan verhalten.

Um dieses Ergebnis experimentell zu sichern und auszubauen, müßten weitere Untersuchungen angestellt werden. Vor allem wäre zu versuchen, *Phycomyces* mit sauren Farbstoffen zu behandeln, von denen das Kaliumfluoreszein aus wichtigen Gründen in den Vordergrund zu treten hätte. Ich habe diese Arbeit bisher zurückgestellt, weil sie eine wesentliche Abänderung der Methode verlangt, mit deren Ausarbeitung ich mich zur Zeit beschäftige.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die Myzelien des heterothallischen *Phycomyces Blakesleeanus* werden mit Neutralrot bei verschiedener CH möglichst ohne Schädigung (inturbant) gefärbt. In saurer Lösung speichert die Membran die Farbe, in alkalischer das Zellinnere in Form kleiner Tröpfchen. Geringe Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens haben keinen Einfluß auf das Färbungsergebnis. Auch die rein vegetativ wachsenden Myzelien des (+)-Stammes und des (—)-Stammes unterscheiden sich in der Farbspeicherung nicht. Der Umschlagspunkt von der Membranfärbung zur Tröpfchenbildung im Zellinnern liegt bei jungen Hyphen um pH 7,0, bei älteren um pH 9,0. Das führt zum Nachweis eines Längsgradienten der Färbbarkeit im Myzel; an der keimenden Spore wird dieser erst 4 Stunden nach der Keimung deutlich. Stark wachsende Teile des Myzels lassen sich durch die Vitalfärbung von wenig wachsenden oder ruhenden Teilen unterscheiden, selbst wenn noch keine morphologische Differenzierung zu bemerken ist. Das einzellige Myzel von *Phycomyces* verhält sich hier wie ein sich entwickelndes vielzelliges Organ einer höheren Pflanze.

2. Das Myzel von *Basidiobolus ranarum* wird mit Neutralrot bei verschiedener CH gefärbt. Die Membran nimmt keine Färbung an; das Zellinnere speichert den Farbstoff bei höherer Wasserstoffionenkonzentration als bei *Phycomyces*. Es wird das Auftreten zweier Zelltypen mit verschiedenem Speicherungsvermögen beschrieben. Sie sind Glieder eines Längsgradienten, der der Speicherungsfähigkeit des Plasmas parallel läuft, nicht Entfärbungstypen (vgl. Becker und Skupienski). Bildet *Basidiobolus* Palmellen, so ist durch Behandlung mit Neutralrot und Methylenblau Membranfärbung zu erzielen. Die Speicherung im Zellinnern tritt dann erst bei höherer CH ein.

3. Durch fluoreszenzanalytische Untersuchung der Berberinsulfat- und Kaliumfluoreszeinfärbungen wird festgestellt, daß die Membran von *Basidiobolus* und *Saprolegnia* keine Farbe zu speichern vermag, sondern nur von der Farblösung imbibiert wird.

4. Durch Färbungen mit Berberinsulfat und Kaliumfluoreszein werden die isoelektrischen Punkte gefunden, die dem Zentralkörper des Kernes und dem Plasma bei *Basidiobolus* zukommen.

5. Das mit Neutralrot gefärbte Myzel von *Saprolegnia* zeigt das Auftreten einer großen Zentralvakuole an Stelle kleiner Vakuolen und den auch bereits bekannten Entmischungsprozeß der Farbe in derselben. Bei der Färbung mit Kaliumfluoreszein und Berberinsulfat

wird das Vakuom gar nicht oder nur wenig verändert. Inturbant mit Neutralrot, Kaliumfluoreszein oder Berberinsulfat gefärbte Sporen entwickeln sich in normaler Weise zu Myzelien.

6. Die Zellwände, die bei *Phycomyces* die Gametangien voneinander und von den Suspensoren trennen, sowie die Querwand zwischen den beiden kopulierenden Zellen von *Basidiobolus* und ebenso die Tüpfel am Oogon von *Saprolegnia* werden unter der Bezeichnung „Gametenwände" zusammengefaßt. Sie färben sich mit basischen Farbstoffen elektiv, und zwar auch bei einer CH, bei der sonst keine Membranfärbung auftritt.

7. Wenn die Kopulationsorgane von *Phycomyces* mit den basischen Farbstoffen Neutralrot, Methylenblau und Toluidinblau inturbant gefärbt werden, erhalten die Progametangien und Gametangien des (—)-Stammes bei einer CH des Außenmediums, die zwischen den pH-Werten 6,70 und 7,0 liegt, eine stärkere Membranfärbung als die gleichen Organe des (+)-Stammes. Die Geschlechtsorgane des (+)-Stammes besitzen also ein stärkeres Speicherungsvermögen des Zellinnern für basische Farbstoffe als die des (—)-Myzels. Dieser Unterschied wird sichtbar, sobald sich die Hyphen der beiden Stämme berühren, und bleibt bis zum Eintritt der Plasmogamie erhalten. Er erstreckt sich auch auf den Teil der Hyphen, der in unmittelbarer Nähe der Kopulationszone liegt, und ist an Material, das mit Alkohol fixiert ist, ebenfalls nachweisbar.

8. Durch die Färbung der Geschlechtsorgane von *Saprolegnia* mit Kaliumfluoreszein ergibt sich, daß die Antheridien ein stärkeres Speicherungsvermögen für diesen Farbstoff besitzen als die Oogonien.

9. Der IEP des Plasmas des Oogons von *Saprolegnia* und der Kopulationsorgane des (+)-Stammes von *Phycomyces* liegt weiter im sauren Bereich, als der IEP des Antheridiums von *Saprolegnia* und der Kopulationsorgane des (—)-Stammes von *Phycomyces*. Es verhalten sich also bezüglich der Lage des IEP die Kopulationsorgane des (+)-Myzels von *Phycomyces* wie die weiblichen Sexualorgane von *Saprolegnia* und die Geschlechtsorgane des (—)-Myzels von *Phycomyces* wie die männlichen Sexualorgane von *Saprolegnia*.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden in der Botanischen Anstalt der Friedrich-Schiller-Universität Jena ausgeführt. Herrn Doz. Dr. S. Strugger bin ich für die Anregung zu der Arbeit und ihre stete Förderung zu großem Dank verpflichtet.

Verzeichnis der zitierten Literatur.

De Bary, A., Über einige Sklerotinien — Sklerotienkrankheiten. Bot. Ztg. **44,** 377 (1886). — Becker, W. A., und Skupienski, F. X., Observation protoplasmatique vitale sur *Basidiobolus ranarum*. C. r. Ac. Sc., **200,** 1620 (1935). — Becker, W. A., Über das sogenannte Schrittwachstum der Zelle. Cytologia, Fujii-Festschr., 1113 (1937). — Bělař, Der Formwechsel des Protistenkerns. Berlin 1926. — Bünning, E., Über die Farbstoff- und Nitrataufnahme bei *Aspergillus niger*. Flora **131,** 87 (1936). — Burgeff, H., Untersuchungen über Variabilität, Sexualität und Erblichkeit bei *Phycomyces nitens* Kunze. I. Flora **107,** 259 (1914). — Drawert, H., Protoplasmatische Anatomie des fixierten *Helodea*-Blattes. Protoplasma **29,** 206 (1937a). — Ders., Untersuchungen über die pH-Abhängigkeit der Plastidenfärbung mit Säurefuchsin und Toluidinblau in fixierten pflanzlichen Geweben. Flora **131,** 341 (1937b). — Ders., Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe gegen saure und basische Farbstoffe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Flora **132,** 91 (1937c). — Ders., Der Einfluß anorganischer Salze auf die Aufname und Abgabe von Farbstoffen durch die pflanzliche Zelle. Ber. D. Bot. Ges. **55,** 380 (1937d). — Ders., Über die Aufnahme und Speicherung von Prune pure durch die pflanzliche Zelle. Planta **29,** 179 (1938). — Ders., und Strugger, S., Zur Frage der Methylenblauspeicherung in Pflanzenzellen. Ber. D. Bot. Ges. **56,** 43 (1938). — Dubitzky, J., Protoplasma- und Vakuolenkonfiguration bei *Saprolegnia*. Zeitschr. wiss. Mikr. **51,** 213 (1934). — Fitting, H., Untersuchungen über Chemodinese bei *Vallisneria*. Jahrb. wiss. Bot. **67,** 427 (1928). — Grohrock, E., Über die Umhäutung isolierter Protoplasmastücke. Untersuchungen an *Saprolegnia*. Planta **23,** 313 (1935). — Guilliermond, A., Sur l'action du rouge neutre sur les cellules végétales et sur la coloration vitale du vacuome. Bull. hist. Phys. Path. **4** (1927). — Höhnk, W., Zur Zytologie der Oogon- und Eientwicklung bei *Saprolegnia ferax*. Abh. Nat. Ver. Bremen **29,** Heft 3/4, 308 (1934/35). — Konsuloff, St., Die oligodynamische Wirkung des destillierten und des Leitungswassers auf höhere Pflanzen. Biol. Zentralbl. **48,** 65 (1928). — Olive, E. W., Cell and nuclear division in *Basidiobolus*. Ann. Myc. **5,** 404 (1907). — Raciborski, M., Über den Einfluß äußerer Bedingungen auf die Wachstumsweise des *Basidiobolus ranarum*. Flora **82,** 107 (1896). — Reinhardt, M. O., Das Wachstum der Pilzhyphen. Ein Beitrag zur Kenntnis des Flächenwachstums vegetabilischer Zellmembranen. Jahrb. wiss. Bot. **23,** 479 (1892). — Satina, S., und Blakeslee, A. F., II. A preliminary report on the Manoilov reaction and other tests. Proc. Ac. Sc. **12,** 191 (1926). — Strugger, S., Zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Erythrosin. Ber. D. Bot. Ges. **49,** 453 (1931). — Ders., Über das Verhalten des pflanzlichen Zellkerns gegenüber Anilinfarbstoffen. Planta **18,** 561 (1932). — Ders., Beiträge zur Gewebsphysiologie der Wurzel. Zur Analyse und Methodik der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protoplasma **24,** 108 (1935a). — Ders., Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin 1935(b). — Ders., Beiträge zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protoplasma **26,** 56 (1936a). — Ders., Die Vitalfärbung der Chloroplasten von *Helodea* mit Rhodaminen. Flora **131,** 113 (1936b). — Ders., Die Vitalfärbung als gewebsanalytische Untersuchungsmethode. Arch. f. exp. Zellf. **19,** 199 (1937). — Ders., Die Vitalfärbung des Protoplasmas mit Rhodamin B und 6G. Protoplasma **30,** 85 (1938a). — Ders., Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben. Flora **132,** 253 (1938b). — Ders., Die lumineszenzmikroskopische Analyse des Transpirationsstromes in Parenchymen. Biol. Zbl. **59,** 274 (1939). — Uhlela, V., und Moravek, V., Über die Wirkung von Säuren und Salzen auf *Basidiobolus ranarum*. Ber. D. Bot. Ges. **40,** 8 (1922). — Weber, F., Physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit. Österr. Bot. Ztschrift (1925). — Ders., Vakuolenkontraktion vital gefärbter *Elodea*-Zellen. Protoplasma **9,** 106 (1930).

Druck von Ant. Kämpfe, Jena.

Verlag von Gustav Fischer in Jena *Neue Veröffentlichung*

Die genetischen Grundlagen der Artbildung

Von

Theodosius Dobzhansky
Professor der Genetik am California Institute of Technology

Nach der englischen Ausgabe ins Deutsche übertragen von Dr. Witta Lerche, Berlin

Mit 22 Abbildungen im Text

VIII, 252 S. gr. 8° 1939 RM 9.50, geb. 11.—

Inhalt: 1. Die Mannigfaltigkeit der Organismen. / 2. Genmutation. / 3 Die Mutation als Grundlage der Rassen- und Artunterschiede. / 4. Chromosomenveränderungen. / 5. Variabilität in natürlichen Populationen. / 6. Auslese. / 7. Polyploidie. / 8. Isolationsmechanismen. / 9. Bastardsterilität. / 10. Die Art als natürliche Einheit. / Schrifttum. Register.

Dieses Buch ist aus einer Reihe von Vorlesungen entstanden, die im Oktober 1936 an der Columbia-Universität, New York, gehalten wurden. Es beschäftigt sich anhand bekannter Tatsachen und Theorien der Vererbungswissenschaft mit den Mechanismen, die zu evolutionistischen Veränderungen führen. Zwar gibt es Forscher, die behaupten, daß Evolution mehr sei als Artbildung und daß makro- und mikro-evolutionistische Veränderungen zu unterscheiden seien. Das mag richtig sein oder auch nicht; ein solcher Dualismus der Evolutionsvorgänge ist aber keineswegs erwiesen. Dem Vererbungsforscher bleibt in jedem Falle keine andere Wahl, als sich auf die mikro-evolutionistischen Erscheinungen zu beschränken, die er mit seinen Methoden erfassen kann, und dann zu sehen, wieviel er auf dieser Basis von der Evolution im allgemeinen verstehen kann.

Auf eingehende Besprechung gewisser Einwände gegen die genetische Behandlung von Evolutionsproblemen verzichtet der Verfasser. Lamarckistische Lehren erwähnt er nur und zieht die positive und optimistische Darstellung der Polemik vor; an Stelle ausführlicher Diskussion aller Vorbehalte und Gegengründe setzt er eine feste Lehrmeinung.

Aus dem Geleitwort von Prof. Dr. Max Hartmann:

Das Evolutionsproblem, die Frage der Fragen in der Biologie, wird nun auch von den Genetikern an den verschiedensten Stellen und in den verschiedensten Ländern, in Deutschland, Rußland und Amerika, angegriffen, zwar nicht gleich mit großen allgemeinen Theorien, sondern in geduldiger, zielsicherer Kleinarbeit, indem von verschiedenen Seiten her, von reiner Erbanalyse, Zytologie, Biogeographie und von der mathematischen Behandlung populationsphysiologischer Fragen, Baustein um Baustein zu einer neuen synthetischen Zusammenfassung herbeigeschafft wird. Da eine zusammenfassende Darstellung dieser Bestrebungen bis vor kurzem fehlte, so ist in breiten Kreisen der Biologen vielfach unbekannt, was heute bereits an gesichertem Tatsachenmaterial zum Evolutionsproblem vorliegt. DOBZHANSKY hat 1937 in seinem Buch „Genetics and the Origin of Species" zum erstenmal eine derartige moderne zusammenfassende Darstellung des Evolutionsproblems vom Standpunkte des Genetikers aus gegeben. Er war dazu durch seine Vielseitigkeit besonders befähigt. Er weiß auf dem Gebiet der zoologischen wie botanischen Genetik Bescheid; gleichzeitig ist er in der Zytologie zu Hause und vermag die wichtigen mathematischen Überlegungen, die bisher nur in schwer verständlichen, in Deutschland meist unbekannten Spezialarbeiten zu finden waren, in leicht faßlicher Form darzustellen. Möge die vorliegende deutsche Übersetzung dazu beitragen, die Bedeutung der Genetik für das Evolutionsproblem den breitesten Biologenkreisen näherzubringen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Vererbung „erworbener Eigenschaften“ und Auslese

Von

Dr. **Walter Zimmermann**
ao. Professor an der Universität Tübingen

Mit 80 Abbildungen im Text

XII, 347 S. gr.8° 1938 RM 17.—, geb. 18.50

Inhalt: **Einführung**: Historisches. Allgemeine Erkenntnismethoden und Begriffe. / **II. Die vier Hauptfragen der „Vererbung erworbener Eigenschaften“.** 1. Verändern sich die Erbfaktoren, und werden sie in verändertem Zustand auf die Nachkommenschaft übertragen? (Stammesgeschichtliche, Verwandtschafts- und experimentelle Beweise.) Biogenetisches Grundgesetz. Neubildung und Verlust von Erbfaktoren. „Entstehung“ von Rassen, Gattungen, Arten und anderen Sippen (Verwandtschaftsproblem). Aussterben der Arten. Orthogenesis und Irreversibilität als Ausdruck des Entwicklungsablaufes. Gesamtbild des stammesgeschichtlichen Wandels. 2. Welche Ursachenzusammenhänge lassen sich für die Veränderung von Erbfaktoren nachweisen? 3. Sind die erworbenen bzw. veränderten Erbfaktoren „zweckmäßig“, dem betreffenden Organismus „zweckdienlich“, nützlich? 4. Ursache und Anpassung. Lamarckismus, einschl. Orthogenesistheorie. Darwinistische Selektionslehre. Die Kritik an der Selektionslehre. / **III. Praktische Schlußfolgerungen.** 1. Grenzziehung. 2. Phylogenetische Umbildung zum Menschen: Genetische Zusammenhänge für die Seele. Kausalgenetische Fragen beim Menschen. 3. Aufgaben der Zukunft: Nutzorganismen. Mensch. (Erbgut, Erbänderungen, Erbdefekte.) / Schlußwort. Anmerkungen. Sach- und Autorenregister.

Zeitschr. f. Deutsche Geisteswissenschaft. Bd. I (1939), S. 556: Mit großem wissenschaftlichen Ernst und aller Verantwortung vor der sehr schwierigen Frage wird hier eins der bedeutungsvollsten Probleme einer monographischen Darstellung unterzogen. . . . Mit scharfsinnigen Ausführungen räumt Z. mit den mannigfachen Schlagworten auf, die, ohne einen wohlgekennzeichneten Sinn zu haben, dennoch die Diskussion dieses in die verschiedensten Gebiete biologischer Wissenschaften, wie in brennende Tagesfragen und weitreichende Geistesprobleme eingreifenden Fragenkreises beherrscht haben. „Es gibt keine ‚Vererbung erworbener Eigenschaften‘ im lamarckistischen Sinne. D. h. persönliche Anpassungen übertragen sich nicht auf die Nachkommen. Die ‚orthogenetische‘ Häufung zweckmäßiger Einrichtungen in der Stammesgeschichte ist im Sinne der Selektionslehre zustande gekommen durch das Wirken fortgesetzter Auslese der Lebenstüchtigen.“ Dieses Ergebnis wird gewonnen durch eine scharf gegliederte Auswertung der ungeheuren Literatur zu diesen Fragen; die zahllosen praktischen Untersuchungen und theoretischen Erörterungen, die so oder so zu dem Problem Stellung genommen haben, werden mit dem Rüstzeug einer umfassenden Sachkenntnis einer kritischen Würdigung und klärenden Diskussion unterworfen.

Ich stehe nicht an, das Werk Zimmermanns als eine der bedeutungsvollsten Neuerscheinungen des vergangenen Jahres zu bezeichnen.

Hans Kleiner.

Resumptio genetica. Bd. XIII, Heft 3: . . . Das vom Verlag gut ausgestattete Buch ist äußerst flüssig und anregend geschrieben. Ausführliche Literaturverzeichnisse am Ende eines jeden Kapitels und eine Erläuterung der wichtigsten Fachausdrücke erhöhen den Wert des Buches. Alles in allem ein Werk, das für unsere Zeit geschrieben ist, und das dazu beitragen wird, um die meisten Meinungsdifferenzen, die eine Verständigung über die „Vererbung erworbener Eigenschaften“ so hoffnungslos erscheinen lassen, aus dem Wege zu räumen. Der Preis des Buches ist trotz seiner guten Ausstattung erstaunlich billig.

Buchmann, Berlin-Dahlem.